

## **Identifikasi Molekuler *Mungbean yellow mosaic India virus* dan Betasatelit yang Berasosiasi dengan Gejala Mosaik Kuning pada Kacang panjang di Sleman, Yogyakarta**

### **Molecular Identification of *Mungbean yellow mosaic India virus* and Its Betasatellite Associated with Yellow Mosaic on Yardlong Bean in Sleman, Yogyakarta**

**Mustika Ajeng Kartini Putri Pertiwi, Sedyo Hartono\*,  
Susanto Somowiyarjo, Sri Sulandari, Argawi Kandito**  
Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta 55281

#### **ABSTRAK**

Gejala mosaik kuning dan keriting daun ditemukan pada pertanaman kacang panjang di Sleman, Yogyakarta. *Begomovirus* diketahui sebagai salah satu penyebab penyakit tersebut. Penelitian dilakukan untuk mengidentifikasi spesies *Begomovirus* dan DNA satelit yang berasosiasi dengan penyakit mosaik kuning kacang panjang. Ekstraksi DNA total dari tanaman bergejala dilanjutkan dengan amplifikasi fragmen DNA spesifik *Begomovirus* dan Betasatelit. Amplikon DNA berukuran  $\pm 1500$  pb dan  $\pm 1300$  pb berhasil diperoleh menggunakan berturut-turut primer universal *Begomovirus* dan primer spesifik Betasatelit. Analisis sekuen nukleotida mengonfirmasi identitas *Begomovirus* yang menginfeksi tanaman kacang panjang ialah *Mungbean yellow mosaic India virus* (MYMIV) dengan homologi 99% terhadap isolat MYMIV asal Indonesia. DNA satelit yang berasosiasi dengan MYMIV menunjukkan karakteristik Betasatelit, yaitu memiliki *satellite common region* (SCR) dengan struktur *stem-loop* dan sekuen TAATATTAC pada bagian *loop*, *adenine rich region* sebesar 54.96%, dan ORF (*open reading frame*) *non-coding*. Lebih lanjut, analisis rekombinasi menggunakan SimPlot mengindikasikan bahwa satelit *non-coding* MYMIV merupakan satelit rekombinasi antara Betasatelit dan DNA-B *Pepper yellow leaf curl Indonesia virus* (PepYLCIV). Artikel ini merupakan laporan pertama asosiasi betasatelit DNA *non-coding* dengan MYMIV di Indonesia.

Kata kunci: *Begomovirus*, identifikasi, rekombinasi, satelit *non-coding*, *stem-loop*

#### **ABSTRACT**

Yellow mosaic and leaf curl symptoms was observed in yard long bean cultivation in Sleman, Yogyakarta. *Begomovirus* is known as one of the causal agent of this disease. Research was conducted to identify species of *Begomovirus* and the associated DNA satellites from yellow mosaic disease of yard long bean. Total DNA was extracted from symptomatic leaves. DNA amplification was carried out through polymerase chain reaction using universal primer for *Begomovirus* and specific primer for Betasatellite. DNA fragments of 1500 bp and 1300 bp was successfully amplified which indicated the presence of *Begomovirus* and DNA satellite in symptomatic leaves, respectively. Nucleotide sequence analysis showed that *Begomovirus* infecting yardlong bean has close relationship to *Mungbean yellow mosaic India virus* isolate from Indonesia with 99% homology. DNA satellite associated with MYMIV

---

Alamat penulis korespondensi: Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Jalan Flora no. 1 Bulaksumur, Sleman, Yogyakarta 55281.  
Tel: (0274) 523926, Surel: sedyohartono@ugm.ac.id.

showed characteristic of Betasatellites, i.e. stem-loop structure in satellite conserve regions (SCR) TAATATTAC sequence in the loop region, adenine rich region (54.96%), and a non-coding ORF (open reading frame). SimPlot analysis suggests that the non-coding satellite associated with MYMIV was a recombinant satellite between betasatellite and DNA-B PepYLCIV (*Pepper yellow leaf curl Indonesia virus*). This study is the first report of the non-coding DNA satellite associated with MYMIV in Indonesia.

Key words: *Begomovirus*, identification, *non-coding satellite*, recombination, *stem-loop*

## PENDAHULUAN

*Begomovirus* merupakan salah satu genus virus tumbuhan yang saat ini menjadi masalah utama pada berbagai tanaman budi daya. *Begomovirus* memiliki kisaran inang yang cukup luas, meliputi famili Solanaceae, Compositae, Leguminosae, Cucurbitaceae, dan Caricaceae. Beberapa spesies *Begomovirus* yang telah dilaporkan di Indonesia yaitu *Ageratum yellow vein virus* (AYVV), *Tomato leaf curl Java virus* (ToLCJaV), *Tomato yellow leaf curl Kanchanaburi virus* (TYLCKaV), *Pepper yellow leaf curl Indonesia virus* (PepYLCIV), *Tomato leaf curl New Delhi virus* (ToLCNDV), *Squash leaf curl China virus* (SLCCV), dan *Mungbean yellow mosaic India virus* (MYMIV) (Kon *et al.* 2006; Subiastuti *et al.* 2019; Nurulita *et al.* 2015; Sutrawati *et al.* 2020).

Penularan *Begomovirus* terjadi melalui serangga vektor kutukebul, *Bemisia tabaci* Genn. secara persisten. Serangga kutukebul diketahui bersifat polifagus, sehingga dapat mengakuisisi dan menginokulasi virus dari banyak spesies tanaman inang (Gilbertson *et al.* 2015). Satu ekor *B. tabaci* dapat berasosiasi dengan lebih dari satu spesies *Begomovirus* (Purwoko *et al.* 2015). Hal ini berpotensi menyebabkan terjadinya epidemi penyakit yang merugikan, serta munculnya fenomena rekombinasi antar virus karena infeksi campuran virus pada tanaman inang (Sidik *et al.* 2017; Wilisiani *et al.* 2019a).

Berdasarkan tipe genom, *Begomovirus* dapat dibedakan atas *monopartite*, yaitu kelompok dengan genom tunggal (DNA-A) dan *bipartite*, yaitu kelompok dengan genom ganda (DNA-A dan DNA-B). Beberapa spesies *Begomovirus* dilaporkan berasosiasi dengan

satelit DNA, yaitu suatu DNA sirkuler dengan ukuran berkisar antara 700–1400 pb. Satelit DNA dikategorikan menjadi tiga kelompok, yaitu Alfasetelit, Betasetelit, dan Deltasatelit. Secara umum, keberadaan satelit dapat berperan sebagai determinan patogenisitas virus yang memengaruhi kemunculan gejala (Zhou 2013).

Rekombinasi telah dilaporkan terjadi di antara spesies *Begomovirus*, Betasetelit, Alfasetelit, antara Betasetelit dan Alfasetelit, serta antara Betasetelit dan *helper virusnya* (Wilisiani *et al.* 2019b; Marwal *et al.* 2016; Huang *et al.* 2013; Tao dan Zhou 2008). Kandito *et al.* (2020) melaporkan terjadinya asosiasi *Begomovirus* dengan satelit DNA rekombinasi pada inang Solanaceae. Fenomena yang sama mungkin dapat terjadi pada infeksi *Begomovirus* pada tanaman inang yang lain. Oleh karena itu, penelitian dilakukan untuk mengidentifikasi *Begomovirus* dan keberadaan satelit DNA pada penyakit mosaik kuning kacang panjang (*Vigna unguiculata* ssp. *sesquipedalis* L.).

## BAHAN DAN METODE

### Pengambilan Sampel

Sampel daun diambil dari lokasi pertanaman kacang panjang di Desa Margodadi, Kecamatan Seyegan, Kabupaten Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta (DIY) pada bulan Januari tahun 2020. Pengambilan sampel dilakukan dengan teknik *purposive-random sampling* berdasarkan gejala visual *Begomovirus* pada daun kacang panjang, yaitu menguning, mosaik, dan keriting (Gambar 1). Daun muda bergejala diambil sebanyak 5 lembar, selanjutnya diletakkan pada kantong plastik dan disimpan pada suhu -20 °C sebelum ekstraksi DNA.



Gambar 1 Gejala mosaik kuning pada tanaman kacang panjang di Desa Margodadi, Kecamatan Seyegan, Kabupaten Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta.

### Ekstraksi DNA

DNA total tanaman diekstraksi dari 0.1 g daun kacang panjang bergejala *Begomovirus* menggunakan *Genomic DNA mini kit (plant)* (Geneaid, Taiwan). Ekstraksi DNA total dilakukan mengikuti protokol yang disediakan produsen kit. DNA total dilarutkan dalam air bebas nuklease dan disimpan pada suhu  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , sampai siap digunakan.

### Amplifikasi dan Visualisasi DNA

Amplifikasi DNA *Begomovirus* dilakukan dengan metode *polymerase chain reaction* (PCR) menggunakan pasangan primer universal UPV1 (Bridson dan Markham 1994) dan PAVc715 (Rojas *et al.* 1993) dengan ampikon DNA berukuran  $\pm 1500\text{ pb}$  dan program amplifikasi sesuai dengan yang digunakan Wilisiani (2019a).

Amplifikasi DNA Betasatelit menggunakan pasangan primer  $\beta 01$  dan  $\beta 02$  dengan target ampikon  $\pm 1300\text{ pb}$  dilakukan sesuai program amplifikasi yang diuraikan Kandito *et al.* (2020). Komposisi pereaksi untuk amplifikasi DNA disiapkan dengan volume total  $25\text{ }\mu\text{L}$  yang terdiri atas  $12.5\text{ }\mu\text{L}$  MyTaq Redmix Polymerase (Bioline),  $10\text{ }\mu\text{M}$  masing-masing primer *forward* dan *reverse*  $1\text{ }\mu\text{L}$ ,  $5.5\text{ }\mu\text{L}$  ddH<sub>2</sub>O, dan  $5\text{ }\mu\text{L}$  DNA templat.

Visualisasi ampikon DNA dilakukan pada gel agarosa 1% ( $1\times\text{ TBE}$ ) dan dielektroforesis dengan tegangan 50 volt selama 50 menit. Pewarnaan DNA dilakukan dengan perendaman gel agarosa dalam larutan etidium bromida selama 35 menit. Visualisasi pita DNA dilakukan menggunakan UV transluminator UVT – 2126 (Optima, Jepang) dan didokumentasi dengan kamera digital.

### Analisis Sekuen Nukleotida

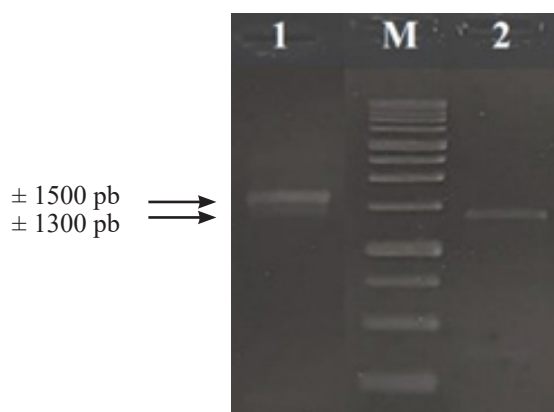
DNA *Begomovirus* dan Betasatelit hasil amplifikasi dikirim ke jasa perunut nukleotida. Runutan nukleotida dianalisis dengan beberapa perangkat lunak seperti BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), Clustal Omega (<http://www.ebi.ac.uk/tools>), dan ORF Finder (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/>).

Pohon filogenetika dikonstruksi dengan program MEGA v.7 menggunakan metode *Neighbor-Joining* dengan 1000 kali nilai *bootstrap* (Kumar *et al.* 2016). Analisis struktur *stem-loop* pada *satellite conserved region* (SCR) dan translasi asam amino dilakukan dengan analisis penyejajaran nukleotida menggunakan perangkat lunak Clustal Omega dan MEGA v.7, sedangkan prediksi *open reading frame* (ORF) diketahui menggunakan perangkat lunak ORF Finder. Analisis rekombinasi dilakukan dengan menggunakan program SimPlot v.3.5.1 (Ray 2003).

## HASIL

Amplifikasi menggunakan pasangan primer UPV1/PAVc715 dan primer  $\beta 01/\beta 02$  berhasil teramplifikasi pita DNA berturut-turut berukuran  $\pm 1500\text{ pb}$  dan  $\pm 1300\text{ pb}$  (Gambar 2). Hal ini menunjukkan infeksi *Begomovirus* mengandung Betasatelit pada sampel daun kacang panjang bergejala mosaik kuning.

Berdasarkan analisis filogenetika, *Begomovirus* asal Sleman yang teridentifikasi dari daun kacang panjang bergejala mosaik kuning ialah *Mungbean yellow mosaic India virus* (MYMIV). MYMIV isolat Sleman memiliki hubungan kekerabatan



Gambar 2 Visualisasi amplicon DNA *Begomovirus* berukuran  $\pm 1500$  pb (kolom 1) dan Betasatelit berukuran  $\pm 1300$  pb (kolom 2) menggunakan pasangan primer, berturut-turut UPV1/PAVc715 dan  $\beta 01/\beta 02$ . M, Penanda DNA 1 kb.

genetika dengan isolat MYMIV dari Indonesia asal Bogor, Brebes, dan Purwakarta yang menginfeksi kacang panjang dan kedelai; dan MYMIV isolat dari Oman dengan tingkat homologinya sebesar 99% dan 97% (Gambar 3).

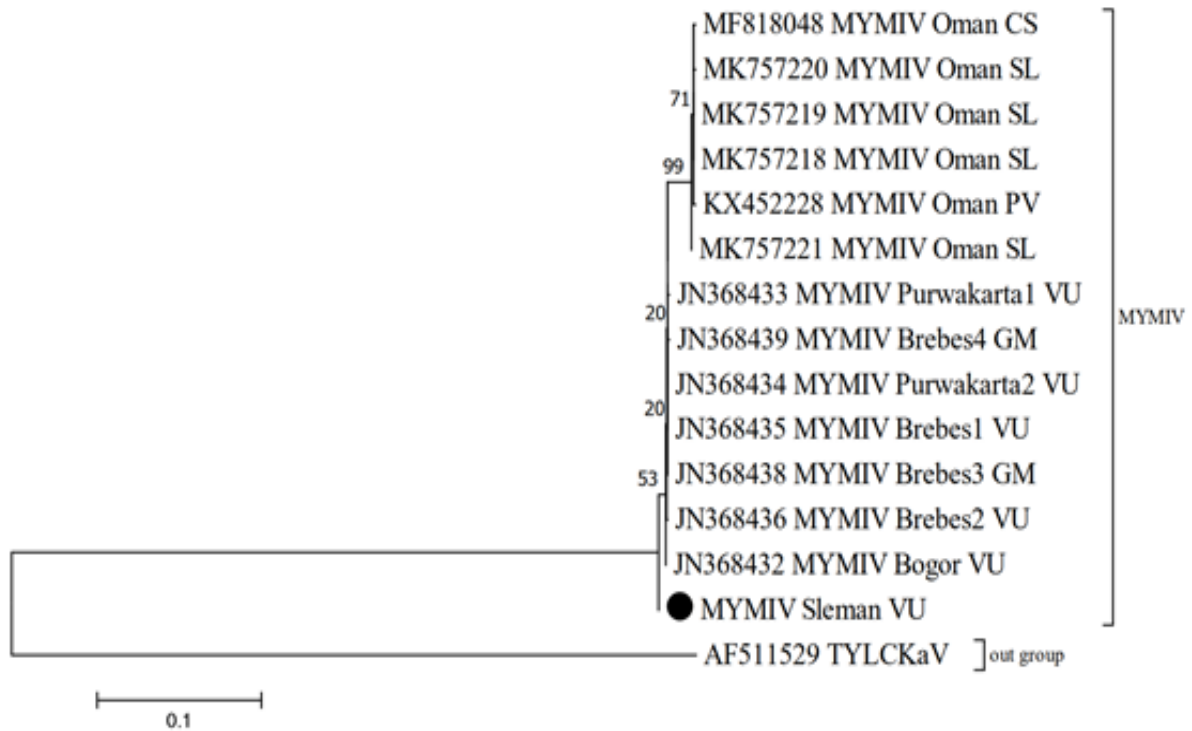
Analisis filogenetika betasatelit DNA menunjukkan bahwa satelit yang berasosiasi dengan MYMIV-Sleman berada satu kelompok dengan satelit *non-coding* yang berasosiasi dengan TYLCKaV dan PepYLCIV. Satelit ini juga menunjukkan hubungan kekerabatan dengan Betasatelit yang berasosiasi dengan ToLCV, AYVV, dan ToLCJaV yang termasuk dalam golongan *ToLCB-like satellites* (Gambar 4). MYMIV isolat India, Pakistan, dan Oman telah dilaporkan berasosiasi dengan *Cotton leaf curl Multan betasatellite* (CLCuMB), *Tobacco leaf curl betasatellite* (TbLCB), dan *Tomato leaf curl betasatellite* (ToLCB) (Rouhibakhsh dan Malathi, 2005; Ilyas *et al.* 2010; Shahid *et al.* 2017). *Mungbean yellow mosaic virus* (MYMV) dilaporkan berasosiasi dengan *Papaya leaf curl betasatellite* (PaLCuB) (Satya *et al.* 2013). Asosiasi *Begomovirus*-betasatelit baru dilaporkan di Indonesia pada Solanaceae dan Compositae (Kon *et al.* 2006; Kandito *et al.* 2019). Oleh karena itu hasil penelitian ini merupakan laporan pertama tentang asosiasi MYMIV dengan Betasatelit pada kasus penyakit kacang panjang di Indonesia.

Analisis sekuen nukleotida Betasatelit MYMIV isolat Sleman menunjukkan 3 karakteristik Betasatelit, yaitu *satellite conserved region* (SCR), *adenine rich region*, dan *open reading frame* (ORF) tunggal. Pada SCR terdapat struktur *stem loop*, dengan sekuen *loop* berupa TAATATTAC (Gambar 5). *Adenine rich region* terletak pada basa nukleotida nomor 860–1170 dengan tingkat 54.96%.

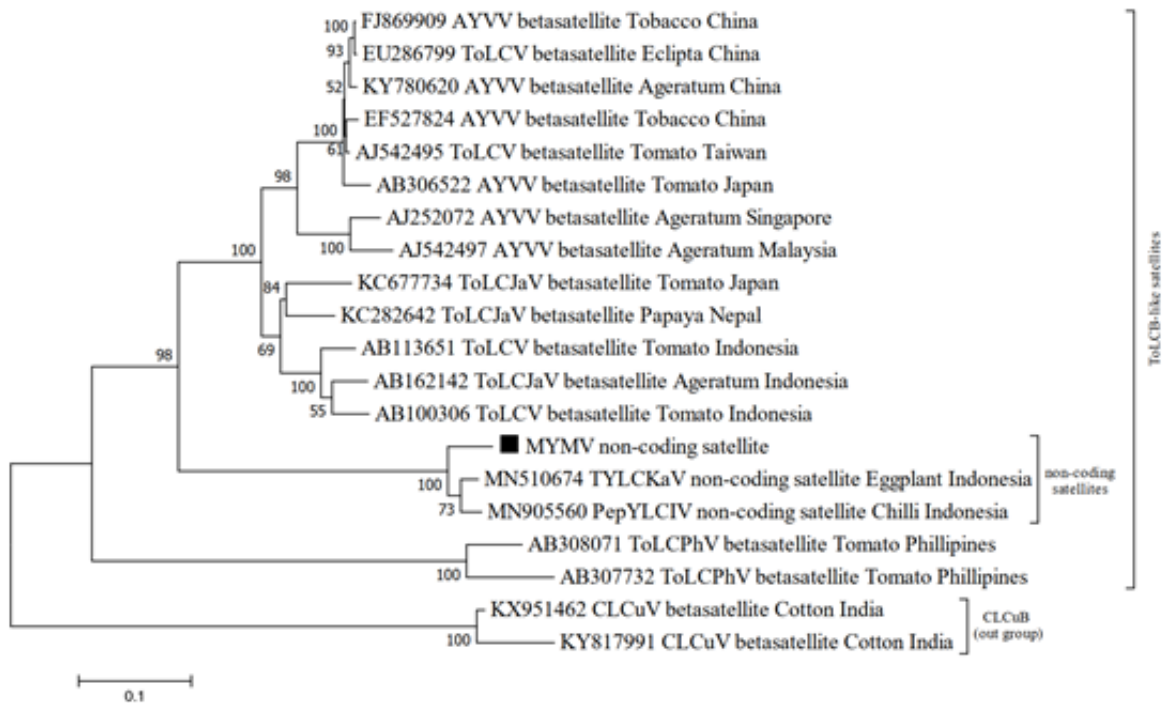
Analisis penyejajaran asam amino dari ORF  $\beta C1$  betasatelit menunjukkan adanya insersi (sisipan) 13 asam amino, yaitu RYGVH (Arginin, Tirosin, Glisin, Valin, Histidin) pada posisi asam amino ke-61 sampai dengan 65 dan NTFHGWDR (Asparagin, Threonin, Fenilalanin, Histidin, Glisin, Tryptopan, Asam aspartat, Arginin) pada posisi asam amino ke-74 sampai dengan 81; dan beberapa stop kodon yang terletak pada posisi asam amino ke-60, 86, 93, 95 dan 122 (Gambar 6). Protein yang dihasilkan ORF  $\beta C1$  berperan dalam berbagai proses sel inang, di antaranya ialah pertumbuhan sel, pertumbuhan kloroplas dan sistem imun tanaman (Satya *et al.* 2013). Analisis rekombinasi menggunakan program SimPlot menunjukkan bahwa satelit yang berasosiasi dengan MYMIV dari Sleman merupakan hasil rekombinasi antara Betasatelit dengan DNA-B *Pepper yellow leaf curl Indonesia virus* (PepYLCIV) (Gambar 7).

## PEMBAHASAN

Gejala daun menguning, mosaik, dan mengeriting pada kacang panjang di daerah Sleman disebabkan oleh infeksi MYMIV. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Nurulita *et al.* (2015). Di Asia Selatan, MYMIV dilaporkan menginfeksi berbagai tanaman legum, sedangkan di Indonesia virus tersebut dilaporkan telah menginfeksi kacang panjang dan kedelai (Nurulita *et al.* 2015; Sutrawati *et al.* 2020). Selain MYMIV, infeksi PepYLCV dan ToLCV juga ditemukan pada tanaman kacang panjang. Ketiga virus tersebut dapat menginfeksi secara bersamaan dan menyebabkan gejala daun menguning dan mosaik (Sidik *et al.* 2017).



Gambar 3 Analisis filogenetika MYMIV isolat kacang panjang asal DIY terhadap beberapa isolat MYMIV lain dari Genbank. *Tomato yellow leaf curl Kanchanaburi virus* (TYLCKaV) digunakan sebagai pembandingan diluar grup.



Gambar 4 Analisis filogenetika satelit MYMIV isolat kacang panjang asal Sleman terhadap satelit DNA yang berasosiasi dengan beberapa spesies *Begomovirus*. ToLCB-like satellites (satelit coding dan non-coding) yang diperoleh dari GenBank. *Cotton leaf curl virus* (CLCuB) betasatellite digunakan sebagai pembandingan diluar grup.

KX951462_CLCuV_betasatellite_Cotton_India	AGC	<b>TCGCCACCGCTTATAATATTACCGTGGCGA</b>	GCGGGT	GCCCGATGGCTT	CTTGGTGGGT	60
KY817991_CLCuV_betasatellite_Cotton_India	AGC	<b>TCGCCACCGCTTATAATATTACCGTGGCGA</b>	GCGGGT	GCCCGATGGCTT	CTTGGTGGGT	60
AB308071_ToLCPHV_betasatellite_Tomato_Phillippines	AGC	<b>TCGCCACCGCTTATAATATTACCGTGGCGA</b>	GCGGGT	GCCCGATGGCTT	CTTGGTGGGT	60
AB307732_ToLCPHV_betasatellite_Tomato_Phillippines	AGC	<b>TCGCCACCGCTTATAATATTACCGTGGCGA</b>	GCGGGT	GCCCGATGGCTT	CTTGGTGGGT	60
AB162142_ToLcJav_betasatellite_Ageratum_Indonesia	AGC	<b>TCGCCACCGCTTATAATATTACCGTGGCGA</b>	GCGGGT	GCCCGATGGCTT	CTTGGTGGGT	60
AB100306_ToLcV_betasatellite_Tomato_Indonesia	AGC	<b>TCGCCACCGCTTATAATATTACCGTGGCGA</b>	GCGGGT	GCCCGATGGCTT	CTTGGTGGGT	59
AB113651_ToLcV_betasatellite_Tomato_Indonesia	AGC	<b>TCGCCACCGCTTATAATATTACCGTGGCGA</b>	GCGGGT	GCCCGATGGCTT	CTTGGTGGGT	59
AJ252072_AYVV_betasatellite_Ageratum_Singapore	AGC	<b>TCGCCACCGCTTATAATATTACCGTGGCGA</b>	GCGGGT	GCCCGATGGCTT	CTTGGTGGGT	59
AJ542497_AYVV_betasatellite_Ageratum_Malaysia	AGC	<b>TCGCCACCGCTTATAATATTACCGTGGCGA</b>	GCGGGT	GCCCGATGGCTT	CTTGGTGGGT	60
FJ869909_AYVV_betasatellite_Tobacco_China	AGC	<b>TCGCCACCGCTTATAATATTACCGTGGCGA</b>	GCGGGT	GCCCGATGGCTT	CTTGGTGGGT	60
EU286799_ToLcV_betasatellite_Eclipta_China	AGC	<b>TCGCCACCGCTTATAATATTACCGTGGCGA</b>	GCGGGT	GCCCGATGGCTT	CTTGGTGGGT	60
EF527824_AYVV_betasatellite_Tobacco_China	AGC	<b>TCGCCACCGCTTATAATATTACCGTGGCGA</b>	GCGGGT	GCCCGATGGCTT	CTTGGTGGGT	60
AJ542495_ToLcV_betasatellite_Tomato_Taiwan	AGC	<b>TCGCCACCGCTTATAATATTACCGTGGCGA</b>	GCGGGT	GCCCGATGGCTT	CTTGGTGGGT	60
KY780620_AYVV_betasatellite_Ageratum_China	AGC	<b>TCGCCACCGCTTATAATATTACCGTGGCGA</b>	GCGGGT	GCCCGATGGCTT	CTTGGTGGGT	60
KC677734_ToLcJav_betasatellite_Tomato_Japan	AGC	<b>TCGCCACCGCTTATAATATTACCGTGGCGA</b>	GCGGGT	GCCCGATGGCTT	CTTGGTGGGT	59
KC282642_ToLcJav_betasatellite_Papaya_Nepal	AGC	<b>TCGCCACCGCTTATAATATTACCGTGGCGA</b>	GCGGGT	GCCCGATGGCTT	CTTGGTGGGT	59
AB306522_AYVV_betasatellite_Tomato_Japan	AGC	<b>TCGCCACCGCTTATAATATTACCGTGGCGA</b>	GCGGGT	GCCCGATGGCTT	CTTGGTGGGT	59
MN510674_TYLCKaV_non-coding_satellite_Eggplant_Indonesia	AGC	<b>TCGCCACCGCTTATAATATTACCGTGGCGA</b>	GCGGGT	GCCCGATGGCTT	CTTGGTGGGT	59
MN905560_PepYLCiV_non-coding_satellite_Chilli_Indonesia	AGC	<b>TCGCCACCGCTTATAATATTACCGTGGCGA</b>	GCGGGT	GCCCGATGGCTT	CTTGGTGGGT	59
MYMIV_non-coding_satellite	AGC	<b>TCGCCACCGCTTATAATATTACCGTGGCGA</b>	GCGGGT	GCCCGATGGCTT	CTTGGTGGGT	59

Gambar 5 Penyejajaran sekuen nukleotida SCR satelit MYMIV dengan pembandingan satelit yang terdapat dalam GenBank. Struktur *stem-loop* ditandai dengan garis bawah dan konservasi motif sekuen *loop* TAATATTAC ditandai dengan highlight abu-abu.

KX951462_CLCuV_betasatellite_Cotton_India	MTTSGT	NKKGVRFI	VDRIMENMKI	FIHMRILST	KSPSLIKYEGII	QYRYEDIHVP	FFDF	59
KY817991_CLCuV_betasatellite_Cotton_India	MTTSGT	NKKGVRFI	VDRIMENMKI	FIHMRILST	KSPSLIKYEGII	QYRYEDIHVP	FFDF	59
AB308071_ToLCPHV_betasatellite_Tomato_Phillippines	MTITYN	KTKGMSFV	INVLRR	RENSISVEI	DLFLT	KKPLHKEQFI	IIPYGHQI	IAPFFD
AB307732_ToLCPHV_betasatellite_Tomato_Phillippines	MTITYN	KTKGMSFV	INVLRR	RENSISVEI	DLFLT	KKPLHKEQFI	IIPYGHQI	IAPFFD
AB162142_ToLcJav_betasatellite_Ageratum_Indonesia	MTISY	SNNKGMFFI	IQVRLS	SEIQTVE	LEMSTR	SPALVKHFF	SIPYGHNGII	PPFNF
AB100306_ToLcV_betasatellite_Tomato_Indonesia	MTISY	SNNKGMFFI	IQVRLS	SEIQTVE	LEMSTR	SPALVKHFF	SIPYGHNGII	PPFNF
AB113651_ToLcV_betasatellite_Tomato_Indonesia	MTISY	SNNKGMFFI	IQVRLS	SEIQTVE	LEMSTR	SPALVKHFF	SIPYGHNGII	PPFNF
AJ252072_AYVV_betasatellite_Ageratum_Singapore	MTISY	SNNKGMFFI	IQVRLS	SEIQTVE	LEMSTR	SPALVKHFF	SIPYGHNGII	PPFNF
AJ542497_AYVV_betasatellite_Ageratum_Malaysia	MTISY	SNNKGMFFI	IQVRLS	SEIQTVE	LEMSTR	SPALVKHFF	SIPYGHNGII	PPFNF
FJ869909_AYVV_betasatellite_Tobacco_China	MTISY	SNNKGMFFI	IQVRLS	SEIQTVE	LEMSTR	SPALVKHFF	SIPYGHNGII	PPFNF
EU286799_ToLcV_betasatellite_Eclipta_China	MTISY	SNNKGMFFI	IQVRLS	SEIQTVE	LEMSTR	SPALVKHFF	SIPYGHNGII	PPFNF
EF527824_AYVV_betasatellite_Tobacco_China	MTISY	SNNKGMFFI	IQVRLS	SEIQTVE	LEMSTR	SPALVKHFF	SIPYGHNGII	PPFNF
AJ542495_ToLcV_betasatellite_Tomato_Taiwan	MTISY	SNNKGMFFI	IQVRLS	SEIQTVE	LEMSTR	SPALVKHFF	SIPYGHNGII	PPFNF
KY780620_AYVV_betasatellite_Ageratum_China	MTISY	SNNKGMFFI	IQVRLS	SEIQTVE	LEMSTR	SPALVKHFF	SIPYGHNGII	PPFNF
KC677734_ToLcJav_betasatellite_Tomato_Japan	MTISY	SNNKGMFFI	IQVRLS	SEIQTVE	LEMSTR	SPALVKHFF	SIPYGHNGII	PPFNF
KC282642_ToLcJav_betasatellite_Papaya_Nepal	MTISY	SNNKGMFFI	IQVRLS	SEIQTVE	LEMSTR	SPALVKHFF	SIPYGHNGII	PPFNF
AB306522_AYVV_betasatellite_Tomato_Japan	MTISY	SNNKGMFFI	IQVRLS	SEIQTVE	LEMSTR	SPALVKHFF	SIPYGHNGII	PPFNF
MN510674_TYLCKaV_non-coding_satellite_Eggplant_Indonesia	ISFFL	EHHKGMVFI	INVKF	GSDIQFT	VEVLEF	STRSPALVKH	QFSFLI	SMNIFLQPPP*
MN905560_PepYLCiV_non-coding_satellite_Chilli_Indonesia	ISFFL	EHHKGMVFI	INVKF	GSDIQFT	VEVLEF	STRSPALVKH	QFSFLI	SMNIFLQPPP*
MYMIV_non-coding_satellite	ISFFL	EHHKGMVFI	INVKF	GSDIQFT	VEVLEF	STRSPALVKH	QFSFLI	SMNIFLQPPP*

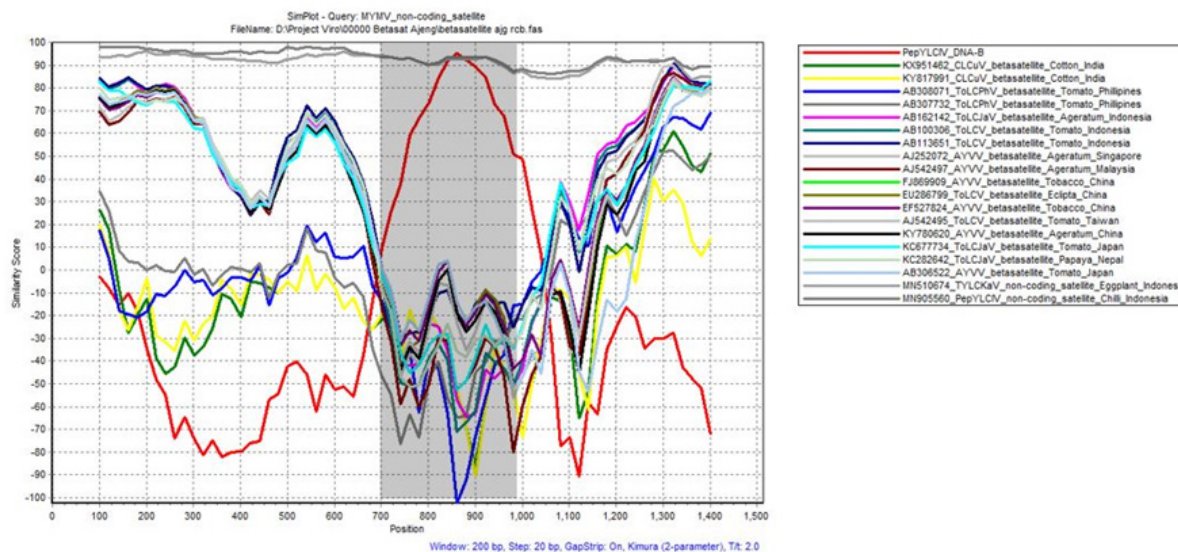
  

KX951462_CLCuV_betasatellite_Cotton_India	----	NGFE	SGSII	----	ANFL	FAYNEAKIEE	FEIEDIV	HRLDILV	LENPELLGINV	106
KY817991_CLCuV_betasatellite_Cotton_India	----	NGFE	SGSII	----	ANFL	FAYNEAKIEE	FEIEDIV	HRLDILV	LENPELLGINV	106
AB308071_ToLCPHV_betasatellite_Tomato_Phillippines	----	NLEE	GGIK	----	GLIN	IMYADS	PAEEFR	HEDMVE	IDILMMNEA	PVVDINI
AB307732_ToLCPHV_betasatellite_Tomato_Phillippines	----	NLEE	GGIK	----	GLIN	IMYADS	PAEEFR	HEDMVE	IDILMMNEA	PVVDINI
AB162142_ToLcJav_betasatellite_Ageratum_Indonesia	----	NLEE	GGIK	----	NLLR	IMYKDS	IEEIK	KAEDMVEI	IDIMMQQEA	PVIDIQV
AB100306_ToLcV_betasatellite_Tomato_Indonesia	----	NLEE	GGIK	----	NLLR	IMYKDS	IEEIK	KAEDMVEI	IDIMMQQEA	PVIDIQV
AB113651_ToLcV_betasatellite_Tomato_Indonesia	----	NLEE	GGIK	----	NLLR	IMYKDS	IEEIK	KAEDMVEI	IDIMMQQEA	PVIDIQV
AJ252072_AYVV_betasatellite_Ageratum_Singapore	----	NLEE	GGIK	----	NLLR	IMYKDS	IEEIK	KAEDMVEI	IDIMMQQEA	PVIDIQV
AJ542497_AYVV_betasatellite_Ageratum_Malaysia	----	NLEE	GGIK	----	NLLR	IMYKDS	IEEIK	KAEDMVEI	IDIMMQQEA	PVIDIQV
FJ869909_AYVV_betasatellite_Tobacco_China	----	NLEE	GGIK	----	NLLR	IMYKDS	IEEIK	KAEDMVEI	IDIMMQQEA	PVIDIQV
EU286799_ToLcV_betasatellite_Eclipta_China	----	NLEE	GGIK	----	NLLR	IMYKDS	IEEIK	KAEDMVEI	IDIMMQQEA	PVIDIQV
EF527824_AYVV_betasatellite_Tobacco_China	----	NLEE	GGIK	----	NLLR	IMYKDS	IEEIK	KAEDMVEI	IDIMMQQEA	PVIDIQV
AJ542495_ToLcV_betasatellite_Tomato_Taiwan	----	NLEE	GGIK	----	NLLR	IMYKDS	IEEIK	KAEDMVEI	IDIMMQQEA	PVIDIQV
KY780620_AYVV_betasatellite_Ageratum_China	----	NLEE	GGIK	----	NLLR	IMYKDS	IEEIK	KAEDMVEI	IDIMMQQEA	PVIDIQV
KC677734_ToLcJav_betasatellite_Tomato_Japan	----	NLEE	GGIK	----	NLLR	IMYKDS	IEEIK	KAEDMVEI	IDIMMQQEA	PVIDIQV
KC282642_ToLcJav_betasatellite_Papaya_Nepal	----	NLEE	GGIK	----	NLLR	IMYKDS	IEEIK	KAEDMVEI	IDIMMQQEA	PVIDIQV
AB306522_AYVV_betasatellite_Tomato_Japan	----	NLEE	GGIK	----	NLLR	IMYKDS	IEEIK	KAEDMVEI	IDIMMQQEA	PVIDIQV
MN510674_TYLCKaV_non-coding_satellite_Eggplant_Indonesia	<b>RYGVH</b>	<b>HQRQVQVNTFHS</b>	<b>*DRHVF</b>	<b>*VYRPS</b>	<b>*A*</b>	<b>FISED</b>	<b>MVEI</b>	<b>IDILVQDQ</b>	<b>QAVVEI</b>	<b>IHV</b>
MN905560_PepYLCiV_non-coding_satellite_Chilli_Indonesia	<b>RYGVH</b>	<b>HQRQVQVNTFHS</b>	<b>*DRHVF</b>	<b>*VYRPS</b>	<b>*E*</b>	<b>FISED</b>	<b>MVEI</b>	<b>IDILVQDQ</b>	<b>QAVVEI</b>	<b>IHV</b>
MYMIV_non-coding_satellite	<b>RYGVH</b>	<b>HQRQVQVNTFHS</b>	<b>*DRHVF</b>	<b>*VYRPS</b>	<b>*E*</b>	<b>FISED</b>	<b>MVEI</b>	<b>IDILVQDQ</b>	<b>QAVVEI</b>	<b>IHV</b>

KX951462_CLCuV_betasatellite_Cotton_India	MEPYV	FNKKFTV*	118
KY817991_CLCuV_betasatellite_Cotton_India	MEPYV	FNKKFTV*	118
AB308071_ToLCPHV_betasatellite_Tomato_Phillippines	GEKFN	VYSTTNI*	118
AB307732_ToLCPHV_betasatellite_Tomato_Phillippines	GEKFN	VYSTTNI*	118
AB162142_ToLcJav_betasatellite_Ageratum_Indonesia	NDEYR	VYKHVTV*	118
AB100306_ToLcV_betasatellite_Tomato_Indonesia	NDEYR	VYKHVTV*	118
AB113651_ToLcV_betasatellite_Tomato_Indonesia	NDEYR	VYKHVTV*	118
AJ252072_AYVV_betasatellite_Ageratum_Singapore	NDEYH	YKNTV*	118
AJ542497_AYVV_betasatellite_Ageratum_Malaysia	NDEYH	YKNTV*	118
FJ869909_AYVV_betasatellite_Tobacco_China	NDEYH	YKNTV*	118
EU286799_ToLcV_betasatellite_Eclipta_China	NDEYH	YKNTV*	118
EF527824_AYVV_betasatellite_Tobacco_China	NDEYH	YKNTV*	118
AJ542495_ToLcV_betasatellite_Tomato_Taiwan	NDEYH	YKNTV*	118
KY780620_AYVV_betasatellite_Ageratum_China	NDEYH	YKNTV*	118
KC677734_ToLcJav_betasatellite_Tomato_Japan	NDEYH	YKNTV*	118
KC282642_ToLcJav_betasatellite_Papaya_Nepal	NDEYH	YKNTV*	118
AB306522_AYVV_betasatellite_Tomato_Japan	NDEYH	YKNTV*	118
MN510674_TYLCKaV_non-coding_satellite_Eggplant_Indonesia	NDEYH	VYKHVTV*	126
MN905560_PepYLCiV_non-coding_satellite_Chilli_Indonesia	TDEYH	VYKHVTV*	126
MYMIV_non-coding_satellite	NDEYH	VYKHVTV*	126

Gambar 6 Penyejajaran sekuen translasi asam amino ORF tunggal satelit MYMIV dengan pembandingan dari GenBank. Terdapat beberapa sisipan asam amino (area bergaris bawah) dan stop kodon (\*)



Gambar 7 Analisis rekombinasi menggunakan SimPlot dengan sekuen satelit MYMIV sebagai *query*. Setiap kurva yang terbentuk merupakan perbandingan antara sekuen yang dianalisis (*query*) dan sekuen pembanding. Wilayah berwarna abu-abu adalah daerah rekombinasi antara kelompok betasatelit dengan DNA-B PepYLCIV.

Hal tersebut mengindikasikan bahwa gejala mosaik kuning pada kacang panjang tidak hanya disebabkan oleh infeksi satu spesies *Begomovirus*, tetapi dapat disebabkan oleh beberapa spesies. Gejala mosaik kuning di Bogor, Jawa Barat pertama kali teridentifikasi disebabkan oleh infeksi ganda antara *Bean common mosaic virus* strain Blackeye (*Potyvirus*) dan *Cucumber mosaic virus* (*Cucumovirus*) (Damayanti *et al.* 2009).

Infeksi MYMIV pada tanaman kacang panjang di Sleman berasosiasi dengan Betasatelit yang berada dalam kelompok yang sama dengan satelit *non-coding* dari TYLCKaV dan PepYLCIV. Pada ORF betasatelit MYMIV terdapat sisipan asam amino dan stop kodon prematur yang menyebabkan translasi asam amino tidak sempurna dalam mengode protein  $\beta C1$ , sehingga satelit ini disebut sebagai satelit DNA *non-coding*. Analisis lebih jauh menunjukkan hubungan kekerabatannya dengan Betasatelit dalam golongan ToLCB-like satellites. Asosiasi *Begomovirus* dengan Betasatelit telah dilaporkan sebelumnya di Indonesia, antara lain DNA- $\beta 01$  berasosiasi dengan ToLCJaV dan DNA- $\beta 02$  berasosiasi dengan AYVV [Java] pada tanaman tomat, DNA- $\beta$  berasosiasi dengan ToLJaV pada gulma *Ageratum conyzoides*, DNA- $\beta$  berasosiasi

dengan PepYLCV pada tanaman cabai, serta satelit *non-coding* yang berasosiasi dengan TYLCKaV dan PepYLCIV dari tanaman terung dan cabai (Kon *et al.* 2006 dan 2007; Kandito *et al.* 2019, 2020, 2021; Jamsari dan Pedri 2013).

Analisis rekombinasi dengan SimPlot menunjukkan rekombinasi antara Betasatelit dengan DNA-B PepYLCIV pada *adenine rich region*, yaitu daerah yang diketahui sebagai *recombination hot spot* bagi Betasatelit (Kumar *et al.* 2015; Marwal *et al.* 2016). Rekombinasi Betasatelit dengan DNA-B PepYLCIV dapat terjadi karena dugaan adanya infeksi campuran atau ko-infeksi antara MYMIV dan PepYLCIV pada tanaman kacang panjang dengan gejala mosaik kuning. PepYLCIV merupakan anggota *Begomovirus* yang menyebabkan penyakit daun keriting kuning pada tanaman cabai di Indonesia. Kisaran inang PepYLCIV sangat luas termasuk tanaman-tanaman dari famili Leguminosae (Ilyas *et al.* 2010)

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan penyakit mosaik kuning pada tanaman kacang panjang di Sleman disebabkan oleh MYMIV yang berasosiasi dengan Betasatelit dalam kelompok satelit *non-coding* yang berasosiasi dengan TYLCKaV dan PepYLCIV. Hasil ini merupakan informasi baru tentang insidensi

kompleks *Begomovirus*-Betasatelit pada tanaman kacang panjang dan menjadi dasar peringatan dini adanya perubahan populasi virus yang menyebabkan penyakit pada tanaman kacang panjang. Hal di atas dapat digunakan sebagai bahan pertimbangan dalam menyusun strategi pengendalian virus ini.

### UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih kepada Dedi Mulyadi yang membantu dalam pengumpulan sampel daun kacang panjang dalam penelitian ini.

### DAFTAR PUSTAKA

- Bridson RW, Markham PG. 1994. Universal primers for the PCR amplification of dicot-infecting geminiviruses. *Mol Biotechnol.* 1:202–205. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF02921559>.
- Damayanti TA, Alabi OJ, Naidu RA, Rauf A. 2009. Severe outbreak of a yellow mosaic disease on the yard long bean in Bogor, West Java. *Hayati J Biosci.* 16(2):78–82. DOI: <https://doi.org/10.4308/hjb.16.2.78>.
- Gilbertson RL, Batuman O, Webster CG, Adkins S. 2015. Role of the Insect Supervectors *Bemisia tabaci* and *Frankliniella occidentalis* in the Emergence and Global Spread of Plant Viruses. *Annu Rev Virol.* 2(1):67–93. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-virology-031413-085410>.
- 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: 2116–2128. DOI: <https://doi.org/10.3390/v5092116>.
- Ilyas M, Qazi J, Mansoor S, Bridson RW. 2010. Genetic diversity and phylogeography of begomoviruses infecting legumes in Pakistan. *J Gen Virol.* 91(8):2091–2101. DOI: <https://doi.org/10.1099/vir.0.020404-0>.
- Jamsari J, Pedri J. 2013. Complete nucleotide sequence of DNA A-like genome and DNA-β of monopartite *Pepper yellow leaf curl virus*, a dominant *Begomovirus* infecting *Capsicum annuum* in West Sumatera Indonesia. *Asian J Plant Pathol.* 7 (1): 1–14. DOI: <https://doi.org/10.3923/ajppaj.2013.1.14>.
- Kandito A, Hartono S, Sulandari S, Somowiyarjo S, Widyasari YA. 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. DOI: <https://doi.org/10.13057/biodiv/d210117>.
- Kandito A, Hartono S, Sulandari S, Somowiyarjo S. 2019. Molecular characterization of betasatellite associated with *begomovirus* on *Ageratum conyzoides* in Magelang, Central Java. *JPTI.* 23(2):292–298. DOI: <https://doi.org/10.22146/jpti.46579>.
- Kandito A, Hartono S, Sulandari S, Somowiyarjo S. 2021. A recombinant DNA-satellite associated with *Pepper yellow leaf curl Indonesia virus* in highland area. *Indonesian J Biotech.* 26(2):82–90. DOI: <https://doi.org/10.22146/ijbiotech.64817>.
- Kon T, Hidayat SH, Hase S, Takahashi H, Ikegami M. 2006. The natural occurrence of two distinct begomoviruses associated with DNA and a recombinant DNA in a tomato plant from Indonesia. *Phytopathology* 96(5):517–525. DOI: <https://doi.org/10.1094/PHYTO-96-0517>.
- Kon T, Kuwabara K, Hidayat SH, Ikegami M. 2007. A *Begomovirus* associated with *ageratum yellow vein disease* in Indonesia: evidence for natural recombination between *Tomato leaf curl Java virus* and *Ageratum yellow vein virus*-[Java]. *Arch Virol.* 152: 1147–1157. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00705-006-0928-3>.
- Kumar S, Stecher G, Tamura K. 2016. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol Biol Evol.* 33(7):1870–1874. DOI: <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>.
- Marwal A, Prajapat R, Gaur RK. 2016. First report of recombination analysis of



- betasatellite and alphasatellite sequence isolated from an ornamental plant marigold in India: an in silico approach. *Int J Virol.* 12(1):10–17. DOI: <https://doi.org/10.3923/ijv.2016.10.17>.
- Nurulita S, Hidayat SH, Mutaqin KH, Thomas J. 2015. Molecular characterization of *Begomovirus* infecting yard long bean (*Vigna unguiculata* subsp. *sesquipedalis* L.) in Java, Indonesia. *Biotropia.* 1(22):53–60. DOI: <https://doi.org/10.11598/btb.2015.22.1.401>.
- Purwoko RR, Hartono S, Suputa, Lukman R, Wahyudin D. 2015. Emerging *Pepper yellow leaf curl virus* and *Mungbean yellow mosaic virus* of single *Bemisia tabaci* in Java, Indonesia. Di dalam: The 11<sup>th</sup> International Student Conference; 2015 Desember 5–6; Ibaraki (JP): Ibaraki University.
- Ray SC. 2003. SimPlot for Windows (version 3.5.1.). Distributed by the author Baltimore, MD, USA. <https://sray.med.som.jhmi.edu/SCSoftware/simplot/>. [diakses 27 April 2021].
- Rojas MR, Gilbertson RL, Russell DR, Maxwell DP. 1993. Use of degenerate primers in the polymerase chain reaction to detect whitefly-transmitted geminiviruses. *Plant Dis* 77:340–347. DOI: 10.1094/PD-77-0340.
- Rouhibakhsh A, Malathi VG. 2005. Severe leaf curl disease of cowpea – a new disease of cowpea in Northern India caused by *Mungbean yellow mosaic India virus* and a satellite DNA  $\beta$ . *Plant Pathol.* 54:259. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2005.01139.x>.
- Satya VK, Malathi VG, Velazhahan R, Rabindran R, Jayamani P, Alice D. 2013. Characterization of betasatellite associated with the yellow mosaic disease of grain legumes in Southern India. *Acta Virol.* 57:405–414. DOI: [https://doi.org/10.4149/av\\_2013\\_04\\_405](https://doi.org/10.4149/av_2013_04_405).
- Shahid MS, Briddon RW, Al-Sadi AM. 2017. Identification of *Mungbean yellow mosaic Indian virus* associated with *Tomato leaf curl betasatellite* infecting *Phaseolus vulgaris* in Oman. *J Phytopathol.* 165(3):204–211. DOI: <https://doi.org/10.1111/jph.12551>.
- Sidik EA, Hartono S, Sulandari S, Lukman R, Affifudin A, Wahyudin D, Santoso HS. 2017. Molecular evidence for mixed infection of four begomovirus in common bean and yard long bean showing severe yellow symptoms in East Java, Indonesia. Di dalam: Isnantyo A, Nuringtyas TR, editor. *Proceeding of The 1<sup>st</sup> International Conference on Tropical Agriculture.* Switzerland (CH): Springer. hlm. 73–84. DOI: [https://doi.org/10.1007/978-3-319-60363-6\\_7](https://doi.org/10.1007/978-3-319-60363-6_7).
- Subiastuti AS, Hartono S, Daryono BS. 2019. Detection and identification of *Begomovirus* infecting Cucurbitaceae and Solanaceae in Yogyakarta, Indonesia. *Biodiversitas.* 20(3):738–744. DOI: <https://doi.org/10.13057/biodiv/d200318>.
- Sutrawati M, Hidayat SH, Suastika G, Sukarno BPW, Nurmansyah A. 2020. Penyakit mosaik kuning pada kedelai. *J Fitopatol Indones.* 16(1):30–36. DOI: <https://doi.org/10.14692/jfi.16.1.30-36>.
- Tao X, Zhou X. 2008. Pathogenicity of a naturally occurring recombinant DNA satellite associated with *Tomato yellow leaf curl China virus*. *J Gen Virol.* 89: 306–311. DOI: <https://doi.org/10.1099/vir.0.83388-0>.
- Wilisiani F. 2019a. Deteksi *Begomovirus* pada tanaman cabai di Magelang Indonesia. *AGROISTA: J Agrotek.* 3(01): 1–10.
- Wilisiani F, Mashiko T, Wang WQ, Suzuki T, Hartono S, Neriya Y, Nishigawa H, Natsuaki T. 2019b. New recombinant of *Tomato leaf curl New Delhi virus* infecting melon in Indonesia. *J Gen Plant Pathol.* 85(4):306–310. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10327-019-00849-7>.
- Zhou X. 2013. Advances in understanding *begomovirus* satellite. *Ann Rev Phytopathol.* 51(1):357–381. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082712-102234>.