

**IDENTIFIKASI MOLEKULER DAN VARIASI GENETIK
BEGOMOVIRUS YANG MENGINFEKSI TANAMAN
TERUNG UNGU (*Solanum melongena* L.) SERTA PATOGENISITASNYA
PADA BEBERAPA SPESIES SOLANACEAE**

(Skripsi)

Oleh

**ERIKA FEBRIANTI
1714191007**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2022**

**IDENTIFIKASI MOLEKULER DAN VARIASI GENETIK
BEGOMOVIRUS YANG MENGINFEKSI TANAMAN
TERUNG UNGU (*Solanum melongena* L.) SERTA PATOGENISITASNYA
PADA BEBERAPA SPESIES SOLANACEAE**

Oleh

ERIKA FEBRIANTI

Skripsi

sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA PERTANIAN

pada

**Jurusan Proteksi Tanaman
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2022**

ABSTRAK

IDENTIFIKASI MOLEKULER DAN VARIASI GENETIK *BEGOMOVIRUS* YANG MENGINFEKSI TANAMAN TERUNG UNGU (*Solanum melongena* L.) SERTA PATOGENISITASNYA PADA BEBERAPA SPESIES SOLANACEAE

Oleh

ERIKA FEBRIANTI

Genus *Begomovirus* merupakan kelompok terbesar penyebab penyakit pada tanaman dalam famili *Geminiviridae*. Tanaman Solanaceae yang banyak terinfeksi oleh *Begomovirus* adalah cabai, terung, dan tomat dengan gejala sangat parah. Identifikasi *Begomovirus* berdasarkan gejala penyakit tidak dapat digunakan untuk mengidentifikasi spesies *Begomovirus* yang menginfeksi tanaman. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi *Begomovirus* yang menginfeksi tanaman terung ungu berdasarkan runutan nukleotida AV1, AC2, dan AC1, serta mengetahui patogenisitas *Begomovirus* pada beberapa spesies tanaman Solanaceae. Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Desember 2020 sampai Desember 2021 di Laboratorium Bioteknologi Pertanian dan di kebun percobaan Fakultas Pertanian Universitas Lampung. Identifikasi *Begomovirus* menggunakan *universal primers* Krusty/Homer untuk mengamplifikasi runutan nukleotida AV1 yang berukuran ~550 bp serta *degenerate primers* SPG1/SPG2 untuk mengamplifikasi sebagian runutan nukleotida AC2 dan AC1 yang berukuran ~912 bp. Analisis keragaman genetik *Begomovirus* dibuat menggunakan runutan nukleotida AC2 dan AC1 yang tersedia di GenBank. Hasil menunjukkan bahwa terung ungu yang bergejala menguning dan mosaik kuning adalah *Begomovirus* berdasarkan hasil PCR menggunakan *universal primers* Krusty/Homer dan *degenerate primers* SPG1/SPG2. Hasil analisis filogenetik *Begomovirus* yang menginfeksi terung ungu termasuk ke dalam spesies *Tomato yellow leaf curl Kanchanaburi virus* (TYLCKaV) dan memiliki variasi genetik yang berbeda dengan spesies *Begomovirus* pada tanaman lain. Uji patogenisitas menunjukkan bahwa TYLCKaV dapat menginfeksi tanaman Solanaceae lain yaitu cabai merah keriting dan tomat rampai.

Kata kunci: *Begomovirus*, terung ungu, *Tomato yellow leaf curl Kanchanaburi virus*, Solanaceae

Judul Skripsi : **IDENTIFIKASI MOLEKULER DAN VARIASI GENETIK *BEGOMOVIRUS* YANG MENGINFEKSI TANAMAN TERUNG UNGU (*Solanum melongena* L.) SERTA PATOGENISITASNYA PADA BEBERAPA SPESIES SOLANACEAE**

Nama Mahasiswa : **Erika Febrianti**

Nomor Pokok Mahasiswa : **1714191007**

Jurusan : **Proteksi Tanaman**

Fakultas : **Pertanian**



1. Komisi Pembimbing

Prof. Dr. Ir. Hasriadi Mat Akin, M.P.
NIP 195706291986031002

Selvi Helina, S.P., M.Sc.
NIDN 0028098805

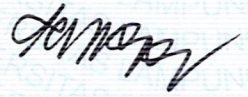
2. Ketua Jurusan Proteksi Tanaman

Dr. Yuyun Fitriana, S.P., M.P.
NIP 198108152008122001

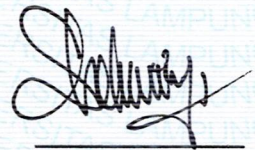
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : **Prof. Dr. Ir. Hasriadi Mat Akin, M.P.**



Sekretaris : **Selvi Helina, S.P., M.Sc.**



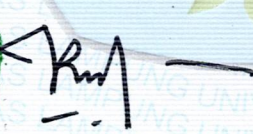
Penguji
Bukan Pembimbing : **Ir. Nur Yasin, M.Si.**



2. Dekan Fakultas Pertanian



Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.
NIP. 196110201986031002

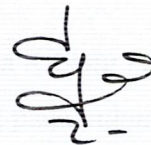


Tanggal Lulus Ujian Skripsi: **4 Juli 2022**

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul "**Identifikasi Molekuler dan Variasi Genetik *Begomovirus* yang Menginfeksi Tanaman Terung Ungu (*Solanum melongena* L.) serta Patogenisitasnya pada Beberapa Spesies Solanaceae**" merupakan hasil karya saya sendiri dan bukan hasil karya orang lain. Akan tetapi beberapa bagian tertentu yang mendukung penulisan skripsi ini saya kutip dari hasil karya orang lain yang telah saya tuliskan dengan sebenarnya secara jelas dengan kaidah, norma, dan etika penulisan karya ilmiah di Universitas Lampung. Apabila di kemudian hari terbukti bahwa skripsi ini merupakan hasil salinan atau dibuat oleh orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan ketentuan akademik yang berlaku.

Bandar Lampung, 4 Juli 2022
Penulis



Erika Febrianti
NPM 1714191007

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Bandar Lampung pada tanggal 13 Februari 2000. Penulis merupakan anak bungsu dari dua bersaudara yang lahir dari pasangan Bapak Kiswanto dan Ibu Husnaini. Penulis menyelesaikan pendidikan di Sekolah Dasar Negeri 2 Harapan Jaya pada tahun 2011, di Madrasah Tsanawiyah Negeri 2 Bandar Lampung pada tahun 2014, dan di Madrasah Aliyah Negeri 1 Bandar Lampung pada tahun 2017.

Penulis diterima sebagai mahasiswa di Jurusan Proteksi Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN). Selama menjadi mahasiswa penulis pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Kimia Dasar (2018, 2019, dan 2020), Dasar-dasar Perlindungan Tanaman (2019 dan 2020), Virologi Tumbuhan (2020), Ilmu Penyakit Benih (2020), Nematologi Tumbuhan (2020), Karantina Pertanian (2020), Rancangan Percobaan (2021), Pengendalian Penyakit Tanaman (2021), dan Pengantar Genetika Proteksi Tanaman (2021).

Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Kibang Pacing, Kecamatan Menggala Timur, Kabupaten Tulang Bawang pada bulan Januari–Februari 2020 selama 40 hari. Pada bulan Juni–Agustus 2020 penulis melaksanakan Praktik Umum di Balai Karantina Pertanian Kelas I Bandar Lampung selama 40 hari. Penulis juga aktif berorganisasi di Himpunan Mahasiswa Proteksi Tanaman (HIMAPROTEKTA) dan pernah menjabat sebagai Sekretaris Bidang III (Pengembangan Minat dan Bakat) pada periode tahun 2020/2021.

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ


untuk
Ayah, Ibu, dan Mbak Pin

“Every soul will taste **death**.
And We test you (O humanity) with good and evil as a trial,
then to Us you will (all) be returned.”
(Al-Anbiyaa 21: 35)

“If you are always worrying about what other people think,
you will never get any **tougher**.”
(Confessions by Minato Kanae)

“Failure is a **vehicle**, not a barrier.”
(Dr. Sam Qurashi)

SANWACANA

Puji syukur ke hadirat Allah  yang telah memberikan segala rahmat, nikmat, dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Skripsi dengan judul “**Identifikasi Molekuler dan Variasi Genetik *Begomovirus* yang Menginfeksi Tanaman Terung Ungu (*Solanum melongena* L.) serta Patogenisitasnya pada Beberapa Spesies Solanaceae**” merupakan salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Pertanian di Universitas Lampung. Terwujudnya skripsi ini tidak lepas dari partisipasi dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih yang setulusnya kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si. selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung yang telah memfasilitasi dalam proses penyusunan skripsi ini.
2. Dr. Yuyun Fitriana, S.P., M.P. selaku Ketua Jurusan Proteksi Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Lampung yang telah memberikan saran dan memfasilitasi dalam proses penyusunan skripsi ini.
3. Prof. Dr. Ir. Hasriadi Mat Akin, M.P. selaku dosen pembimbing pertama yang telah memberikan bimbingan, bantuan, nasihat, dan ilmu selama proses penelitian hingga menyelesaikan skripsi ini.
4. Selvi Helina, S.P., M.Sc. selaku dosen pembimbing kedua yang telah memberikan bimbingan, bantuan, nasihat, dan ilmu selama proses penelitian hingga menyelesaikan skripsi ini.
5. Ir. Nur Yasin, M.Si. selaku dosen pembahas yang telah memberikan bimbingan, saran, dan ilmu sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.

6. Prof. Dr. Ir. F.X. Susilo, M.Sc. selaku dosen pembimbing akademik yang telah memberikan pengarahan, dukungan, nasihat, saran, dan ilmu untuk penulis selama masa perkuliahan.
7. Seluruh Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung yang telah memberikan ilmu dan pengalaman serta membimbing penulis selama menempuh pendidikan di Universitas Lampung.
8. Kedua orang tua penulis Ayahanda Kiswanto dan Ibunda Husnaini, serta Kakak Perempuan penulis satu-satunya Ervina Septiani, S.Pd. yang selalu memberikan kasih sayang, semangat, nasihat, ridho, dan doa yang tak kunjung putus. Karya sederhana ini penulis persembahkan untuk keluarga kecil ini dan semoga ini menjadi langkah awal untuk membuat keluarga ini bangga.
9. Sobat rumpi penulis Ridho Prasetia, yang selalu punya cara yang benar dalam menghibur penulis. Terima kasih sudah menjadi tempat berkeluh kesah dan selalu mau direpotkan.
10. Safira Nuraini, Jefry Fernando Purba, Hafidzah Nurul Aulia, teman-teman Proteksi Tanaman angkatan 2017, dan teman-teman senasib di Laboratorium Bioteknologi terima kasih atas bantuan, dukungan, dan kebaikannya selama ini.
11. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah banyak membantu dalam proses penelitian hingga penyusunan skripsi.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, akan tetapi penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi para pembaca.

Bandar Lampung, Juli 2022
Penulis

Erika Febrianti

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang dan Masalah	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	2
1.3 Kerangka Pemikiran	2
1.4 Hipotesis.....	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Genus <i>Begomovirus</i>	5
2.2 Hubungan antara <i>Begomovirus</i> dan Kutu Kebul (<i>Bemisia tabaci</i> Gennadius) (Homoptera: <i>Aleyrodidae</i>)	6
2.3 Gejala Penyakit pada Tanaman Solanaceae Akibat Infeksi <i>Begomovirus</i>	8
2.4 Identifikasi dan Variasi Genetik <i>Begomovirus</i>	9
2.4.1 Identifikasi Berdasarkan Gejala dan Kisaran Inang.....	9
2.4.2 Identifikasi Molekuler Menggunakan Teknik PCR	9
2.4.3 Variasi Genetik <i>Begomovirus</i>	12
III. BAHAN DAN METODE	13
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	13
3.2 Alat dan Bahan	13
3.3 Observasi, <i>Rearing</i> Vektor, dan Persiapan Tanaman Uji.....	14
3.3.1 Observasi di Lapangan	14
3.3.2 <i>Rearing</i> Serangga Vektor Kutu Kebul	15
3.3.3 Persiapan Tanaman Uji Patogenisitas <i>Begomovirus</i>	15
3.4 Identifikasi <i>Begomovirus</i> pada Tanaman Terung Ungu dan Tanaman Hasil Inokulasi Menggunakan Teknik PCR	16
3.5 Variasi Genetik <i>Begomovirus</i>	19
3.6 Uji Patogenisitas <i>Begomovirus</i>	20

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	22
4.1 Hasil Penelitian	22
4.1.1 Gejala di Lapangan.....	22
4.1.2 Patogenisitas <i>Begomovirus</i> pada Tanaman Solanaceae	24
4.1.3 Identifikasi <i>Begomovirus</i> pada Tanaman Terung Ungu dan Tanaman Hasil Inokulasi Menggunakan Teknik PCR.....	30
4.1.4 Variasi Genetik <i>Begomovirus</i>	31
4.2 Pembahasan	32
V. SIMPULAN DAN SARAN	35
5.1 Simpulan.....	35
5.2 Saran.....	35
DAFTAR PUSTAKA	37

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Representasi Nukleotida dengan <i>IUPAC ambiguity code</i>	12
2. Urutan oligonukleotida primer untuk identifikasi <i>Begomovirus</i>	18
3. Komposisi reagen PCR untuk satu kali reaksi	18
4. Komposisi reagen PCR untuk sampel yang disekuensing	18
5. Tinggi dan jumlah daun tanaman terung ungu yang diinokulasi dengan <i>Begomovirus</i>	26
6. Tinggi dan jumlah daun tanaman cabai merah keriting yang diinokulasi dengan <i>Begomovirus</i>	28
7. Tinggi dan jumlah daun tanaman uji tomat rampai yang diinokulasi dengan <i>Begomovirus</i>	30

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Electron micrograph</i> dan struktur partikel <i>Begomovirus</i>	5
2. Telur, nimfa, dan imago kutu kebul (<i>B. tabaci</i>).....	7
3. Gejala infeksi <i>Begomovirus</i> pada tanaman terung ungu	8
4. Peta Genetik <i>Begomovirus</i>	11
5. Gejala infeksi <i>Begomovirus</i> pada tanaman terung ungu	22
6. Pola penyebaran gejala infeksi <i>Begomovirus</i> pada tanaman.....	23
7. Gejala infeksi <i>Begomovirus</i> pada tanaman cabai merah keriting.	23
8. Gejala infeksi <i>Begomovirus</i> pada tanaman tomat rampai	24
9. Gejala penyakit pada tanaman terung ungu yang diinokulasi dengan <i>Begomovirus</i>	25
10. Perbandingan tinggi masing-masing tanaman terung ungu yang diinokulasi dengan <i>Begomovirus</i>	25
11. Gejala penyakit pada tanaman cabai merah keriting yang diinokulasi dengan <i>Begomovirus</i>	27
12. Perbandingan tinggi masing-masing tanaman cabai merah keriting yang diinokulasi dengan <i>Begomovirus</i>	27
13. Gejala penyakit pada tanaman tomat rampai yang diinokulasi dengan <i>Begomovirus</i>	29
14. Perbandingan tinggi masing-masing tanaman tomat rampai yang diinokulasi dengan <i>Begomovirus</i>	29
15. Visualisasi DNA hasil amplifikasi <i>Begomovirus</i> berukuran ~867 bp dan ~500 bp.....	31
16. Pohon filogenetik <i>Begomovirus</i> dengan metode UPGMA	32

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang dan Masalah

Epidemi penyakit yang disebabkan oleh virus mengalami peningkatan. Genus *Begomovirus* merupakan kelompok terbesar penyebab penyakit dalam famili *Geminiviridae* (Gutierrez, 2002) yang mempunyai spesies paling banyak jika dibandingkan dengan genus-genus lainnya (Navot *et al.*, 1991). *Begomovirus* dapat menyebabkan berbagai kerusakan pada tanaman monokotil maupun dikotil dengan kisaran inang yang luas (Varsani *et al.*, 2017; Roumagnac *et al.*, 2015). *Begomovirus* telah menyebabkan kerusakan yang parah pada pertanaman di wilayah tropis maupun subtropis, sehingga menjadi masalah penting pada budidaya tanaman di dunia (Varma and Malathi, 2003).

Kehilangan hasil tanaman akibat *Begomovirus* di Indonesia telah banyak dilaporkan, terutama pada tanaman Solanaceae (Juliantono *et al.*, 2010). Beberapa tanaman Solanaceae yang banyak terinfeksi oleh *Begomovirus* adalah cabai (Varma and Malathi, 2003), terung (Lazarowitz, 1992), dan tomat (Assion *et al.*, 2017). Menurut Sudiono (2012), keterjadian penyakit kuning pada tanaman cabai di Kabupaten Lampung Barat dan Tanggamus (yang merupakan sentra produksi cabai) dapat mencapai 100% yang disertai pula dengan gejala sangat parah hingga berpotensi menyebabkan gagal panen. Intensitas penyakit yang tinggi ini berkaitan dengan populasi serangga vektornya yakni kutu kebul (Rusli dkk., 1999) yang berperan sebagai agen penyebar virus (Sudiono dkk., 2005). Kutu kebul (*Bemisia tabaci* Gennadius) menularkan *Begomovirus* secara persisten (Brown and Czosnek, 2002). Mehta *et al.* (1994) melaporkan bahwa persentase tanaman yang terinfeksi akan meningkat seiring dengan meningkatnya jumlah kutu kebul yang *viruliferous* (mengandung virion untuk ditularkan).

Epidemi penyakit kuning yang disebabkan oleh *Begomovirus* semakin cepat meluas sehingga berpotensi menghambat produksi tanaman (Mudmainah dan Purwanto, 2010). Namun gejala yang ditimbulkan oleh *Begomovirus* ini sulit untuk dipastikan secara langsung di lapangan. Berdasarkan laporan tersebut perlu adanya teknik untuk mendeteksi *Begomovirus* di dalam tanaman, sehingga gejala infeksi *Begomovirus* ini dapat dibedakan dan dijadikan sebagai landasan penentuan pengendalian yang efektif dan efisien. Menurut Wilisiani dkk. (2014), salah satu teknik deteksi yang sering digunakan yakni dengan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Menurut Wyatt and Brown (1996), teknik PCR ini telah banyak digunakan untuk mendeteksi *Begomovirus* secara cepat dan akurat dari berbagai sampel tanaman sakit dan serangga vektor di berbagai negara. Selain itu, teknik PCR ini juga dapat digunakan untuk menganalisis variasi genetik spesies *Begomovirus* yang menginfeksi tanaman (Santoso dkk., 2013).

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukan penelitian ini, sebagai berikut:

1. Mendeteksi *Begomovirus* yang menginfeksi tanaman terung ungu (*Solanum melongena* L.) berdasarkan gen AV1 (*coat protein*) secara molekuler menggunakan teknik PCR.
2. Mengidentifikasi dan mengetahui variasi genetik *Begomovirus* yang menginfeksi tanaman terung ungu (*S. melongena*) berdasarkan gen AC2 (*transcription activator protein*) dan AC1 (*replication initiator protein*).
3. Mengetahui patogenisitas yang ditimbulkan oleh infeksi *Begomovirus* asal tanaman terung ungu (*S. melongena*) pada beberapa spesies tanaman Solanaceae.

1.3 Kerangka Pemikiran

Begomovirus mulai banyak ditemukan pada tahun 2003 pada tanaman cabai di berbagai daerah pusat produksi di Jawa Tengah, Yogyakarta, dan Lampung. Akibatnya penyakit tersebut menimbulkan gagal panen dan hanya bisa melakukan

pengendalian dengan cara eradikasi, untuk menghindari penyebaran penyakit yang lebih luas (Sulandari dkk., 2006). Menurut laporan Sudiono (2012), keterjadian penyakit kuning pada tanaman cabai di Kabupaten Lampung Barat dan Tanggamus (yang merupakan sentra produksi cabai) dapat mencapai 100%.

Infeksi serta penyebaran *Begomovirus* merupakan hasil interaksi antara virus (*Begomovirus*), vektor (*B. tabaci*), tanaman (famili Solanaceae), dan lingkungan (Akin, 2021). Namun pengaruh lingkungan terhadap penyebaran virus ini ditekankan pada inangnya (tanaman), karena virus tidak dapat mengadakan metabolisme sendiri sehingga relatif tidak bisa dimodifikasi (Sudiono dan Purnomo, 2009). Kondisi lingkungan akan memengaruhi tinggi atau rendahnya konsentrasi virus serta perkembangan gejala (Akin, 2006). Selain itu, penyebaran *Begomovirus* ini hanya bisa ditularkan oleh serangga vektor *B. tabaci* (Hull, 2009), sehingga populasi kutu kebul ini memengaruhi keterjadian penyakit di lapangan (Sudiono dan Purnomo, 2009).

Gejala yang ditimbulkan oleh *Begomovirus* ini sulit untuk dipastikan secara langsung di lapangan, karena gejala yang ditimbulkan pula berbeda-beda, tergantung pada strain dan spesies tanaman yang terinfeksi (Hasyim dkk., 2016). Gejala yang muncul pada tanaman terung ungu umumnya berupa daun menguning dan mosaik kuning (Hasyim dkk., 2016), pada tanaman cabai berupa mosaik kuning dengan permukaan daun yang tidak merata dan tepi daun menggulung ke atas, sedangkan pada tanaman tomat gejalanya yakni daun dapat menggulung ke atas maupun ke bawah dan daun akan mengalami mengecil serta kaku (Rusli dkk., 1999).

Karena sulitnya memastikan gejala infeksi *Begomovirus* di lapangan, maka perlu adanya teknik yang dapat mendeteksi *Begomovirus* salah satunya dengan teknik PCR. Secara tradisional teknik serologi lebih sering digunakan untuk deteksi dan diagnosis virus. Namun demikian, teknik serologi ini mempunyai beberapa kelemahan diantaranya adalah sulitnya preparasi titer dan rendahnya titer dari antigen. Maka dari itu teknik PCR dipilih karena lebih mampu digunakan untuk

mendeteksi *Begomovirus* di lapangan secara cepat dan akurat (Brown *et al.*, 2015), sehingga dapat menemukan sistem pengendalian yang efektif dan efisien.

1.4 Hipotesis

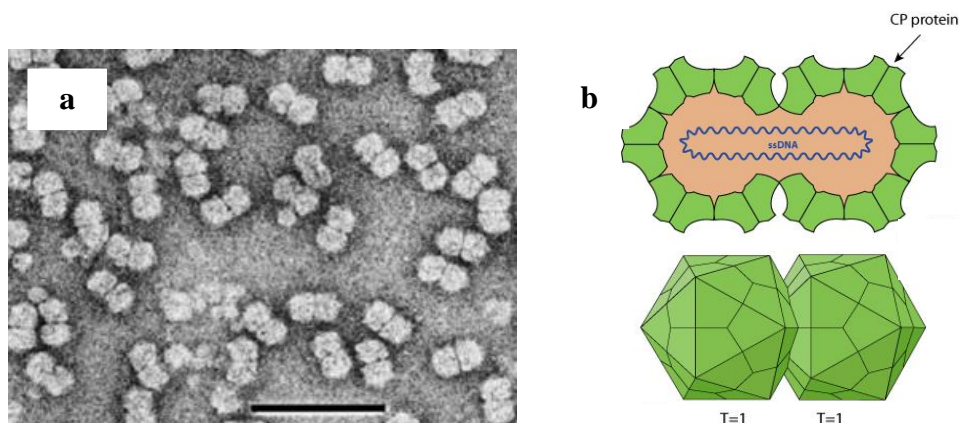
Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini, sebagai berikut:

1. *Begomovirus* asal tanaman terung ungu (*S. melongena*) dapat dideteksi berdasarkan gen AV1 (*coat protein*) secara molekuler menggunakan teknik PCR.
2. *Begomovirus* asal tanaman terung ungu (*S. melongena*) dapat diidentifikasi dan diketahui variasi genetiknya berdasarkan gen AC2 (*transcription activator protein*) dan AC1 (*replication initiator protein*).
3. *Begomovirus* asal terung ungu (*S. melongena*) dapat menginfeksi beberapa spesies tanaman Solanaceae.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Genus *Begomovirus*

Famili *Geminiviridae* terdiri atas sembilan genus: *Begomovirus*, *Mastrevirus*, *Curtovirus*, *Topocuvirus*, *Turncurtovirus*, *Becurtovirus*, *Eragrovirus*, *Capulavirus*, dan *Grablovirus*, berdasarkan kisaran inang (baik monokotil maupun dikotil), serangga vektor (*whiteflies*, *leafhoppers*, *treehoppers*, atau *aphids*), dan struktur genomnya (Varsani *et al.*, 2017; Roumagnac *et al.*, 2015). *Begomovirus* merupakan salah satu genus virus tumbuhan yang memiliki genom berupa asam nukleat *Deoxyribose Nucleic Acid* (DNA) dalam bentuk utas tunggal (*single stranded* – *ssDNA*) yang berbentuk silinder. DNA *Begomovirus* ini berukuran relatif kecil yang dibungkus pada sebuah partikel *geminata* (*twinned*) berbentuk isometri (Gambar 1b), sedangkan genom dari *Begomovirus* dapat berupa monopartit atau bipartit (Fauquet and Stanley, 2005), namun mayoritas genomnya bipartit (Hull, 2009).

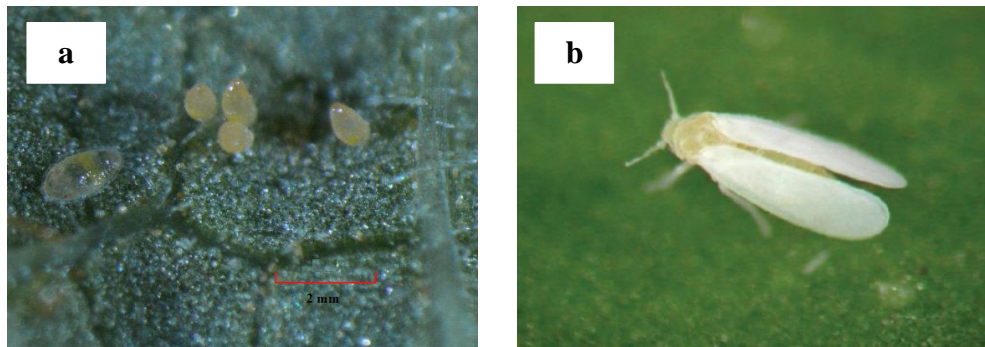


Gambar 1. *Electron micrograph* dan struktur partikel *Begomovirus*.
(a) *electron micrograph Tomato yellow leaf curl virus* (Gafni, 2003);
(b) struktur partikel *Begomovirus*.

Penyakit kuning yang disebabkan oleh *Begomovirus* ini muncul sejak tahun 2008 (Santoso dkk., 2013) dan dapat menimbulkan kerugian mencapai 100% pada beberapa tanaman Solanaceae seperti terung, cabai, dan tomat (Windarningsih dkk., 2018). Keterjadian penyakit ini sangat erat kaitannya dengan vektor kutu kebul. Semakin tinggi populasi kutu kebul maka semakin tinggi pula keterjadian penyakitnya (Sudiono dan Purnomo, 2009). Beberapa spesies *Begomovirus* yang dapat menginfeksi tanaman Solanaceae di Indonesia antara lain: *Tomato yellow leaf curl Kanchanaburi virus* (TYLCKaV) (Kintasari dkk., 2013), *Tomato leaf curl New Delhi virus* (ToLCNDV) (Pratap *et al.*, 2011), *Tomato yellow leaf curl Indonesia virus* (TYLCIV), dan *PYLCIV* (*Pepper yellow leaf curl Indonesia virus*) (Annisaa *et al.*, 2021).

2.2 Hubungan antara *Begomovirus* dan Kutu Kebul (*Bemisia tabaci* Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae)

Perkembangan penyakit yang disebabkan oleh *Begomovirus* sangat cepat, karena diikuti dengan penyebaran yang sangat cepat pula. Penyebaran *Begomovirus* yang sangat cepat dan luas ini, tidak luput dari peran serangga vektornya yaitu *Bemisia tabaci* Gennadius (Gambar 2). *B. tabaci* merupakan salah satu serangga berukuran kecil yang umumnya disebut dengan kutu kebul. Menurut Sulandari dkk. (2006), kutu kebul ini bersifat polifagus, karena memiliki kisaran inang yang luas seperti terung, cabai, tomat, bahkan gulma. Menurut Hasyim dkk. (2016), kutu kebul ini mampu berkembang dengan baik pada kondisi lingkungan yang kering dan panas, namun curah hujan yang tinggi dapat menurunkan populasinya dengan cepat. Hama ini aktif pada siang hari, sedangkan pada malam hari berada di bawah permukaan daun.



Gambar 2. Telur, nimfa, dan imago kutu kebul (*B. tabaci*).
 (a) Telur dan nimfa instar pertama *B. tabaci* (Li *et al.*, 2021);
 (b) Imago *B. tabaci* (Janssen *et al.*, 2016).

Begomovirus hanya dapat ditularkan oleh serangga vektor *B. tabaci*, tidak dapat ditularkan melalui benih maupun secara mekanik (Hull, 2009). Hubungan *Begomovirus* dengan kutu kebul bersifat sirkulatif nonpropagatif (Akin, 2021). Sirkulatif nonpropagatif artinya jika satu kali kutu kebul mengambil makanan dari tanaman yang telah mengandung *Begomovirus* maka selama hidupnya kutu kebul dapat menularkan *Begomovirus* (Hasyim dkk., 2016). Namun, *Begomovirus* tidak mengalami replikasi di dalam tubuh vektornya, namun bereplikasi di sel tanaman (Brown, 2007) dan tidak ditularkan ke generasi berikutnya (Aidawati *et al.*, 2002).

Keberadaan serangga vektor *B. tabaci* yang memiliki kisaran inang yang luas menjadikan penyebaran *Begomovirus* menjadi sangat cepat (Akin, 2021). Gejala yang ditimbulkan pula berbeda-beda, tergantung pada strain dan spesies tanaman yang terinfeksi (Hasyim dkk., 2016). Penyebaran virus melalui vektor dari satu tanaman terinfeksi ke tanaman lain membutuhkan tiga komponen utama, yakni tanaman inang, vektor, dan virus yang akan ditularkan. Tanaman inang akan menjadi sasaran vektor dan virus. Namun dari sudut vektor, yang diperlukan hanya makanan dari tanaman inang. Oleh karena itu, interaksi antara vektor dan tanaman inang ini hanya akan menimbulkan keuntungan bagi virus, karena virus akan mengeksploitasi tanaman inang dan vektor (Akin, 2021).

2.3 Gejala Penyakit pada Tanaman Solanaceae Akibat Infeksi *Begomovirus*

Begomovirus menginfeksi sejak tanaman masih muda, mulai dari daun muda atau pucuk tanaman sehingga tanaman menjadi kerdil dan tidak dapat berproduksi sama sekali. Gejala umum yang ditimbulkan pada tanaman Solanaceae akibat serangan *Begomovirus* yaitu daun menjadi keriting (*curling*), menguning (*yellowing/vein clearing*) (Gambar 3), serta dapat menghambat pertumbuhan tanaman (*stunting*) (Varma and Malathi, 2003; De Barro *et al.*, 2008). Selain itu, daun menjadi kaku dan apabila diremas akan pecah seperti kerupuk sehingga sering disebut penyakit kerupuk (Trisno dkk., 2014).

Gejala infeksi *Begomovirus* pada tanaman terung diawali dengan terbentuknya bintik-bintik kuning yang akan muncul pada seluruh permukaan daun. Selain itu, gejala infeksi *Begomovirus* pada tanaman terung dapat disertai dengan penebalan tulang daun dan tepi daun menggulung ke atas (*cupping*) (Kintasari dkk., 2013). Pada gejala lanjut dapat berupa mosaik, daun yang baru akan mengalami keriting serta mengecil, bunga rontok, dan tidak dapat menghasilkan buah (Hasyim dkk., 2016).



Gambar 3. Gejala infeksi *Begomovirus* pada tanaman terung ungu.
(a) gejala menguning;
(b) gejala mosaik kuning (Kintasari dkk., 2013).

2.4 Identifikasi dan Variasi Genetik *Begomovirus*

2.4.1 Identifikasi Berdasarkan Gejala dan Kisaran Inang

Gejala penyakit yang ditimbulkan pada tanaman indikator (dalam pengujian) merupakan salah satu cara untuk mendapatkan informasi untuk mendeteksi virus tanaman. Menurut Sulandari dkk. (2006), tanaman indikator yang digunakan untuk uji kisaran inang biasanya memiliki kekerabatan yang dekat. Mendeteksi virus hanya berdasarkan gejala penyakit dapat membingungkan, karena beberapa virus pada tanaman dapat menimbulkan gejala penyakit yang sama. Menurut Hull (2009), satu virus dapat menghasilkan variasi gejala tergantung pada strain virusnya, dan campuran dari beberapa virus atau strain virus dapat mempengaruhi gejala.

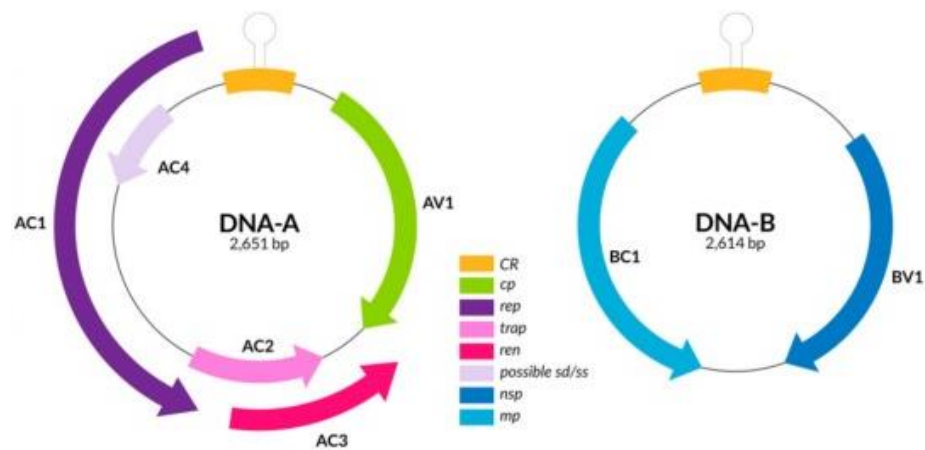
Tipe gejala akibat infeksi virus pada tanaman indikator dapat menjadi petunjuk awal untuk mendeteksi virus tanaman. Penularan virus untuk uji kisaran inang ini melibatkan virus (*Begomovirus*), vektor (*B. tabaci*), tanaman (famili Solanaceae), serta lingkungan. Oleh sebab itu, untuk mempermudah deteksi *Begomovirus* ini diperlukan pemahaman tentang patogenisitas patogen yang ditimbulkan berbagai strain *Begomovirus* pada beberapa tanaman indikator (Akin, 2021).

2.4.2 Identifikasi Molekuler Menggunakan Teknik PCR

Kemajuan di bidang biologi molekuler telah menghadirkan beberapa teknik yang dapat digunakan untuk deteksi dan identifikasi *Begomovirus*, salah satunya adalah teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) (Rojas, 1993). PCR merupakan teknik penggandaan (amplifikasi) asam nukleat virus, dengan menggunakan DNA primer yang memiliki urutan oligonukleotida (*ssDNA*) yang komplemen dengan genom virus yang akan dideteksi. PCR hanya mengamplifikasi asam nukleat yang sesuai dengan primer. Visualisasi hasil amplifikasi diamati dengan elektroforesis *agarose gel* dengan pewarnaan *ethidium bromide* dan sinar ultraviolet (Akin, 2021).

Teknik PCR ini digunakan karena sangat sensitif dan spesifik untuk mendeteksi dan mengidentifikasi berbagai patogen pada tanaman (Rojas, 1993). Selain itu, keuntungan lainnya yakni hanya membutuhkan sedikit DNA *template* virus dan jaringan tanaman yang diduga terinfeksi (Handoyo dan Rudiretna, 2001). Teknik PCR juga memiliki kelebihan dibandingkan dengan beberapa teknik lain seperti serologi. Salah satu kelebihan tersebut yakni relatif lebih mudah dilakukan karena *Begomovirus* mempunyai genom berupa DNA, sehingga *Begomovirus* melakukan replikasi melalui sebuah DNA intermediet berbentuk sirkuler dan utas ganda (Gutierrez, 2000).

Struktur genom *Begomovirus* diklasifikasikan menjadi dua grup, bipartit dan monopartit. Struktur genom bipartit terdiri atas dua molekul ssDNA, yakni DNA-A dan DNA-B, sedangkan yang monopartit tidak memiliki DNA-B (Gambar 4). DNA-A memiliki enam kerangka baca (*Open Reading Frame – ORFs*): AV1, AV2, AC1, AC2, AC3, dan AC4 protein). AV2 hanya ditemukan pada *Old World Begomovirus* (Snehi *et al.*, 2017). AV1 adalah *coat protein (CP)* yang merupakan komponen utama dari *Begomovirus* yang meliputi 40–50% dari polipeptida partikel virus (Windarningsih, 2018) yang berperan dalam penyebaran sistemik melalui jaringan vaskular dan perantara dalam penularan serangga vektor (*vector mediated transmission*). AC2 berperan untuk mengaktivasi CP di jaringan pengangkut tumbuhan (*transcription activator protein – TrAP*) (Hartitz *et al.*, 1999). AC1 adalah *multitasking protein* yang berperan untuk mereplikasi genom virus (*replication initiator protein – ReP*) (Kushwaha *et al.*, 2017). DNA-B memiliki dua kerangka baca, BV1 dan BC1. BV1 berperan untuk translokasi virus ke dalam inti sel (*nuclear shuttle protein – nsp*) dan BC1 berperan untuk translokasi virus (*movement virus – mp*) serta menentukan keparahan gejala dan patogenisitas *Begomovirus* (Snehi *et al.*, 2017).



Gambar 4. Peta Genetik *Begomovirus* (Bornancini *et al.*, 2020)

PCR dilakukan dengan menggunakan sepasang *universal primers* Krusty (*Forward*: 5'– CCN MRD GGH TGT GAR GGN CC– 3') dan Homer (*Reverse*: 5'– SVD GCR TGV GTR CAN GCC AT– 3') yang akan mengamplifikasi bagian dari *CP* (gen penyadi protein selubung virus) dan akan menghasilkan pita DNA berukuran ~550 bp (Revill *et al.*, 2003). Nukleotida dari *CP* merupakan daerah *common region* (yang terdiri atas 50~200 bp) yang berfungsi untuk memprediksi hubungan taksonomi dalam genus *Begomovirus* (Brown *et al.*, 2001). Selain itu, PCR juga dilakukan dengan menggunakan sepasang *degenerate primers* SPG1 (*Forward*: 5'– CCC CKG TGC GWR AAT CC AT– 3') dan SPG2 (*Reverse*: 5'– ATC CVA AYW TYC AGG GAG CTA A– 3') yang akan mengamplifikasi bagian dari AC2 dan AC1 dan akan menghasilkan pita DNA berukuran ~912 bp (Li *et al.*, 2004). Nukleotida tersebut direpresentasikan dengan satu huruf dari *IUPAC ambiguity code* (Bela-ong and Bajet, 2007) pada Tabel 1.

Tabel 1. Representasi Nukleotida dengan *IUPAC ambiguity code*

<i>IUPAC Ambiguity Code</i>	Basa
A	Adenin
C	Sitosin
G	Guanin
T	Timin (atau Urasil)
R	A atau G
Y	C atau T
S	G atau C
W	A atau T
K	G atau T
M	A atau C
D	A atau G atau T
H	A atau C atau T
V	A atau C atau G
N	A atau C atau G atau T

2.4.3 Variasi Genetik *Begomovirus*

Variasi genetik suatu populasi dapat terjadi karena adanya perubahan nukleotida penyusun DNA yang melalui proses mutasi, rekombinasi, atau migrasi gen dari suatu tempat ke tempat lain (Suryanto, 2003). Di Indonesia, beberapa peneliti telah mempelajari variasi genetik *Begomovirus* yang menginfeksi kedelai, kacang-kacangan, tomat, cabai, mentimun, ubi kayu, dan gulma. Penggunaan teknik PCR untuk mempelajari variasi genetik *Begomovirus* ini memiliki beberapa keuntungan, yakni hanya membutuhkan sedikit contoh DNA dan jaringan tanaman yang diduga terinfeksi *Begomovirus* (Santoso dkk., 2013).

Identitas dan variasi genetik ini dapat ditentukan berdasarkan hasil analisis filogenetik dengan melihat kemiripan genetiknya (Santoso, 2008). Informasi mengenai keragaman dan kekerabatan genetik *Begomovirus* di berbagai daerah endemis digunakan untuk menentukan strategi pengendalian menggunakan varietas tahan, yakni melalui perakitan dan perbaikan varietas tahan spesifik *Begomovirus*, pergiliran varietas tahan, dan penanaman multivarietas dengan gen ketahanan yang berbeda (Sharma *et al.*, 2010).

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2020 sampai Desember 2021. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, di kebun percobaan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, dan di lahan terung ungu di Desa Pajar Agung, Kecamatan Pringsewu, Kabupaten Pringsewu, Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan antara lain *mortar, pestle*, timbangan analitik, *micropipette* 100–1000 μL , *micropipette* 10–100 μL , *micropipette* 0,5–10 μL , *tube rack*, *vortex mix*, *waterbath*, *sentrifuge*, *freezer*, mesin *Polymerase Chain Reaction* (PCR), mesin *spin down*, mesin elektroforesis, cetakan agar, *gel tray*, *combs*, *UV Transilluminator*, gelas ukur 20 mL, labu erlenmeyer 100 mL, *oven*, *autoclave*, *tray* semai benih, kored, gembor, sungkup kaca, meteran, dan *smartphone*.

Bahan yang digunakan adalah daun terung ungu bergejala *Begomovirus* sebagai sumber inokulum, tanaman cabai, tanaman tomat, tanaman terung, *tube* (1,5 mL dan 0,2 mL), *Genomic DNA Mini Kit* (*Plant*; Geneaid), 70% *ethanol*, 96% *ethanol*, *isopropanol*, 1x TE (Tris-EDTA) *buffer*, *Water for Injection* (WI), *blue tips* (100–1000 μL), *yellow tips* (10–100 μL), *white tips* (0,5–10 μL), MyTaqTM HS Red Mix, 2x (Bioline), sepasang *universal primers* Krusty (*Forward*: 5'–CCN MRD GGH TGT GAR GGN CC–3') dan Homer (*Reverse*: 5'–SVD GCR TGV GTR CAN GCC AT–3'), sepasang *degenerate primers* SPG1

(*Forward: 5'– CCC CKG TGC GWR AAT CC AT– 3'*) dan SPG2 (*Reverse: 5'– ATC CVA AYW TYC AGG GAG CTA A– 3'*), *agarose powders*, 1x TBE (Tris-Borate-EDTA) *buffer*, *EtBr (Ethidium Bromide)*, 100 bp *DNA ladder*, *DNA loading dye*, aluminium foil, plastik sampel, benih tanaman Solanaceae (cabai merah keriting varietas CA 237, terung ungu varietas SS 110, dan tomat rampai varietas SL 973 merk Bintang Asia), *polybag*, plastik tahan panas, karet gelang, sarung tangan karet, *tissue*, dan alat tulis.

3.3 Observasi, *Rearing* Vektor, dan Persiapan Tanaman Uji

3.3.1 Observasi di Lapangan

Observasi dilakukan untuk mendapatkan daun dan tanaman inokulum terung ungu (*sampling*) yang menunjukkan gejala seperti terinfeksi *Begomovirus*, serta menghitung keterjadian penyakit. Gejala awal yang akan diamati antara lain gejala daun menguning dan mosaik kuning pada permukaan daun muda tanaman terung. Observasi dan *sampling* ini dilakukan pada lahan petani di Desa Pajar Agung, Kecamatan Pringsewu, Kabupaten Pringsewu, Lampung. Varietas terung ungu yang ditanam adalah Yumi F-1 berumur 4 bulan dengan area seluas 2500 m² yang berjumlah 4456 tanaman. Selain itu dilakukan pengamatan pada tanaman di sekitar lahan penelitian untuk diamati apakah ada tanaman dari famili Solanaceae yang terinfeksi *Begomovirus*.

Penghitungan keterjadian penyakit pada tanaman terung ungu di lapangan dihitung dengan menggunakan rumus yang dilaporkan Sudiono dkk. (2005) sebagai berikut:

$$KP = \frac{n}{N} \times 100\%$$

Keterangan:

KP = keterjadian penyakit (%)

n = jumlah tanaman yang terinfeksi *Begomovirus*

N = jumlah tanaman yang diamati

Tanaman terung ungu sebagai sumber inokulum dibawa ke lahan percobaan untuk dipelihara dan diambil sampel daunnya untuk dilakukan deteksi dengan teknik PCR. Selanjutnya sampel daun tanaman terung ungu yang menunjukkan hasil yang positif dengan PCR dipelihara di kebun percobaan sebagai sumber inokulum untuk uji patogenisitas.

3.3.2 Rearing Serangga Vektor Kutu Kebul

Serangga vektor yang digunakan adalah berasal dari telur kutu kebul (*B. tabaci*) yang diperoleh dari lapangan. Telur dipelihara pada tanaman inokulum terung ungu yang diletakkan di dalam sungkupan dan diberi kesempatan untuk berkembang biak. Agar telur *B. tabaci* dapat berkembangbiak dengan cepat, sungkup diletakkan pada tempat yang lembap dengan cara meletakkan sungkupan di tempat yang teduh. Tanaman inokulum terung ungu yang sudah diinfestasi dengan *B. tabaci* disungkup, agar diharapkan kutu kebul tidak meninggalkan tanaman inokulum tersebut sampai saatnya digunakan untuk uji penularan *Begomovirus*.

3.3.3 Persiapan Tanaman untuk Uji Patogenisitas *Begomovirus*

Tanaman uji yang digunakan terdiri atas 3 jenis tanaman Solanaceae yaitu, benih cabai merah keriting (*Capsicum annuum* L.) varietas CA 237, terung ungu (*Solanum melongena* L.) varietas SS 110, dan tomat rampai (*Lycopersicon pimpinellifolium* Mill.) varietas SL 973 merk Bintang Asia. Mulanya benih-benih tersebut disemai dalam *tray* yang masing-masing berisi 1–2 benih. Setelah berumur 4 minggu (telah memiliki 3–5 helai daun sejati), bibit tanaman Solanaceae tersebut dipindah ke *polybag*, dan disiram setiap 1–2 hari sekali. Tanaman uji ini diletakkan di dalam sungkup kaca agar tidak tertular hama lain.

3.4 Identifikasi *Begomovirus* pada Tanaman Terung Ungu dan Tanaman Hasil Inokulasi Menggunakan Teknik PCR

Tahapan yang digunakan untuk mendeteksi *Begomovirus* dari sampel jaringan tanaman meliputi tiga tahap, sebagai berikut:

a. Ekstraksi DNA Total

Ekstraksi DNA dari sampel jaringan tanaman dilakukan dengan mengikuti protokol dari *Genomic DNA Mini Kit (Plant)* dari Geneaid. Ekstraksi DNA ini terdapat empat tahapan, sebagai berikut:

1. Pemisahan Jaringan (*Tissue Dissociation*)

Sebanyak 0,1 g daun segar tanaman sakit dimasukkan ke dalam *mortar* dan digerus dengan *pestle*.

2. Lisis (*Lysis*)

Daun yang telah digerus dimasukkan ke dalam *tube* 1,5 mL. Setelah itu ditambahkan 400 μ L GP1 *buffer* dan 5 μ L RNase A, lalu divorteks supaya tercampur dengan baik, kemudian diinkubasi di dalam *waterbath* dengan suhu 60°C selama 10 menit dan dibalik setiap 5 menit. Pada saat yang sama pula, *Elution Buffer* (200 μ L per sampel) dimasukkan ke dalam *tube* 1,5 mL dan diinkubasi bersama dengan *tube* 1,5 mL yang telah berisi sampel daun. Setelah diinkubasi dengan suhu 60°C selama 10 menit ditambahkan 100 μ L GP2 *buffer* ke dalam *tube* 1,5 mL yang berisi sampel daun, divorteks, dan diinkubasi di atas *ice gel* selama 3 menit, kemudian diletakkan *Filter Column* ke dalam *collection tube* 2 mL dan dipindahkan hasil *mixture* ke dalam *filter column*, kemudian disentrifugasi pada 1.000 x g selama 1 menit, lalu *filter column* dibuang, lalu dipindahkan supernatan dari *collection tube* 2 mL ke *tube* 1,5 mL yang baru.

3. DNA Binding

Setelah itu, ditambahkan sebanyak 1,5 volume GP *buffer* (dipastikan *isopropanol* sudah ditambahkan) ke dalam *tube* 1,5 mL tersebut, lalu divorteks selama 5 detik, kemudian diletakkan GD *Column* ke dalam *collection tube* 2 mL dan sebanyak

700 μ L hasil *mixture* (beserta endapan yang tersisa) dan dipindahkan ke dalam *GD column*. Setelah itu disentrifugasi pada 14.000 x g selama 2 menit, kemudian dituang kembali supernatan di dalam *collection tube* 2 mL ke *GD column*. Setelah itu, disentrifugasi kembali pada 14.000 x g selama 2 menit. *GD column* yang telah disentrifugasi tersebut dipindahkan lagi ke dalam *collection tube* 2 mL.

4. Pencucian (*Wash*)

GD column yang telah disentrifugasi, ditambahkan 400 μ L *W1 Buffer*, lalu disentrifugasi kembali pada 14.000 x g selama 30 detik, kemudian *GD column*-nya dipindahkan lagi ke dalam *collection tube* 2 mL, lalu ditambahkan 600 μ L *Wash Buffer* (dipastikan 96% *ethanol* sudah ditambahkan) ke dalam *GD column*, dan disentrifugasi pada 14.000 x g selama 30 detik. *GD column* yang telah disentrifugasi tersebut dipindahkan lagi ke dalam *collection tube* 2 mL, lalu disentrifugasi pada 14.000 x g selama 3 menit untuk mengeringkan *GD column*.

5. *DNA Elution*

GD column yang telah disentrifugasi dipindahkan ke *tube* 1,5 mL yang baru, lalu ditambahkan 100 μ L *pre-heated Elution Buffer* ke tengah-tengah *GD column*. *GD column* yang sudah ditambahkan *Elution Buffer* tersebut dibiarkan selama 3–5 menit agar terserap dengan baik, lalu disentrifugasi kembali pada 14.000 x g selama 30 detik untuk memurnikan DNA-nya. Setelah disentrifugasi, *GD column* dibuang dan *tube* 1,5 mL hasil ekstraksi tersebut disimpan di dalam *freezer* dengan suhu -39°C sebelum digunakan lebih lanjut.

b. Amplifikasi DNA

DNA hasil ekstraksi diamplifikasi dengan teknik PCR yang menggunakan mesin PCR *Thermal Cycler* (LabCycler 48, Sensoquest, Jerman) mengikuti prosedur Kandito *et al.* (2020). DNA target diamplifikasi dengan menggunakan *universal primers* Krusty/Homer serta *degenerate primers* SPG1/SPG2 (Tabel 2) dan komposisi reagen PCR tercantum pada Tabel 3. Namun khusus untuk sampel yang disekuensing, menggunakan komposisi reagen PCR pada Tabel 4.

Tabel 2. Urutan oligonukleotida primer untuk deteksi dan identifikasi *Begomovirus*

Primer	Urutan Oligonukleotida	Produk PCR
Krusty (<i>Forward</i>)	5'– CCN MRD GGH TGT GAR GGN CC– 3'	~550 bp Revill <i>et al.</i> (2003)
Homer (<i>Reverse</i>)	5'– SVD GCR TGV GTR CAN GCC AT– 3'	
SPG1 (<i>Forward</i>)	5'– CCC CKG TGC GWR AAT CC AT– 3'	~912 bp (Li <i>et al.</i> , 2004)
SPG2 (<i>Reverse</i>)	5'– ATC CVA AYW TYC AGG GAG CTA A– 3'	

Tabel 3. Komposisi reagen PCR untuk satu kali reaksi

Komposisi 1	Komposisi 2	Volume (µL)
MyTaq TM HS Red Mix, 2x	MyTaq TM HS Red Mix, 2x	5,00
<i>Primer Krusty (Forward)</i>	<i>Primer SPG1 (Forward)</i>	1,00
<i>Primer Homer (Reverse)</i>	<i>Primer SPG2 (Reverse)</i>	1,00
<i>DNA Template</i>	<i>DNA Template</i>	1,00
<i>Water for Injection (WI)</i>	<i>Water for Injection (WI)</i>	2,00
Total volume		10,00

Keterangan:

Komposisi 1 = untuk deteksi *Begomovirus* berdasarkan gen AV1

Komposisi 2 = untuk identifikasi *Begomovirus* berdasarkan gen AC2 dan AC1

Tabel 4. Komposisi reagen PCR untuk sampel yang disekuensing

Komposisi	Volume (µL)
MyTaq TM HS Red Mix, 2x	12,50
<i>Primer SPG1 (Forward)</i>	1,00
<i>Primer SPG2 (Reverse)</i>	1,00
<i>DNA Template</i>	1,00
<i>Water for Injection (WI)</i>	9,50
Total volume	25,00

Seluruh komposisi tersebut (Tabel 3 dan 4) dimasukkan ke dalam *tube* 0,2 mL, lalu dicampurkan hingga homogen menggunakan mesin *spin down*. *Tube* 0,2 mL tersebut ditempatkan pada mesin PCR (*Thermal Cycler*). Reaksi amplifikasi dilakukan sebanyak 40 siklus dengan tahapan sebagai berikut: *pre-denaturation* pada suhu 95°C selama 3 menit, *denaturation* pada suhu 95°C selama 1 menit, *annealing* pada suhu 55°C selama 30 detik, *extension* pada suhu 75°C selama 1 menit 30 detik, *final extension* pada suhu 72°C selama 10 menit (Kandito *et al.*, 2020). Setelah mesin PCR turun hingga suhu sekitar 28–29°C, *tube* 0,2 mL hasil PCR diambil dan disimpan di dalam *freezer* dengan suhu –39°C untuk digunakan lebih lanjut.

c. Visualisasi Hasil PCR

Visualisasi pita DNA hasil amplifikasi dilakukan melalui proses elektroforesis. DNA *Begomovirus* hasil amplifikasi dianalisis menggunakan *agarose gel* 1% (dalam 1x TBE *buffer*) yang mengandung 1 µL EtBr (*Ethidium Bromide*; 10 mg/mL). Untuk pengukuran DNA digunakan 100 bp *DNA ladder* sebanyak 2 µL. Kemudian masing-masing sampel dimasukkan dalam sumuran *agarose gel* dengan *micropipette* 0,5–10 µL. Setelah itu sampel dialiri arus dengan tegangan 55 volt selama 60–70 menit. Visualisasi pita DNA hasil amplifikasi tersebut dilihat dengan *UV Transilluminator* dan hasilnya dipotret.

3.5 Variasi Genetik *Begomovirus*

a. Sekuensing

Satu sampel sebanyak 22 µL DNA hasil amplifikasi (dengan *primers* SPG1/SPG2) selanjutnya dikirim ke PT. Genetika Science Jakarta untuk disekuensing agar dapat menentukan klasifikasi *Begomovirus* sampai aras spesies. Selain itu, dikirim pula tujuh sampel masing-masing sebanyak 7 µL DNA hasil amplifikasi tanaman hasil inokulasi (dengan *primers* SPG1/SPG2 dan Krusty/Homer) untuk divisualisasi pita DNA-nya.

b. Analisis Peruntutan Nukleotida DNA Hasil Amplifikasi

Data hasil sampel uji yang telah disekuensing dikonfirmasi ke *GenBank* dengan program *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) di *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) untuk dipilih beberapa isolat yang memiliki kekerabatan yang tinggi dengan sekuen sampel uji. Selain itu, juga dipilih sekuen nukleotida dari *Begomovirus* yang telah diketahui menginfeksi tanaman terung di luar negeri, sebagai pembanding. Sekuen sampel uji dan beberapa sekuen yang telah dipilih melalui NCBI tersebut disejajarkan (*alignment*) menggunakan *Clustal W Multiple Alignment* MEGA v11. Hubungan kekerabatan sekuen sampel uji dan beberapa sekuen yang telah dipilih melalui NCBI tersebut divisualisasi dalam bentuk dendrogram menggunakan program *Molecular Evolutionary Genetic Analysis Software* (MEGA) v11 dengan metode *unweighted pair group method with arithmetic mean* (UPGMA) menggunakan bootstrap 1000 kali ulangan. Rujukan runutan nukleotida *Begomovirus* dari negara lain diperoleh dari *GenBank*. *Out group* yang digunakan adalah *Sugarcane streak mosaic virus* (SCSMV). Penentuan spesies *Begomovirus* hasil isolasi didasarkan pada spesies dengan kekerabatan terdekat pada pohon filogenetik yang diperoleh.

3.6 Uji Patogenisitas *Begomovirus*

Tanaman yang telah dideteksi dengan teknik PCR dan menunjukkan hasil yang positif selanjutnya dikonfirmasi dengan teknik penularan virus oleh vektor kutu kebul ke tanaman sehat. Uji patogenisitas *Begomovirus* ini menggunakan tiga jenis tanaman Solanaceae yakni: tanaman terung ungu, cabai merah keriting, dan tomat rampai serta tanaman sehat (yang tidak ditulari kutu kebul) sebagai kontrol.

Tiga jenis tanaman Solanaceae yang menjadi tanaman uji selanjutnya diinfestasi dengan nimfa dan imago *B. tabaci* yang sudah diperbanyak pada tanaman inokulum terung ungu. Cara memindahkan *B. tabaci* yakni dengan meletakkan tiga jenis tanaman Solanaceae tersebut ke dalam sungkupan yang telah berisi tanaman inokulum terung ungu yang digunakan untuk memelihara *B. tabaci*,

sehingga nimfa dan imago *B. tabaci* dapat berpindah ke tiga jenis tanaman Solanaceae. Nimfa dan imago yang digunakan berjumlah 100 ekor.

Tanaman Solanaceae untuk uji penularan yakni terung ungu, cabai merah keriting, dan tomat rampai masing-masing sebanyak 5 tanaman. Tanaman uji tersebut kemudian dimasukkan ke dalam sungkupan yang telah berisi tanaman inokulum terung ungu yang digunakan untuk memelihara *B. tabaci*. Setelah 72 jam, semua tanaman uji dikeluarkan dari sungkupan.

Setelah waktu inkubasi terpenuhi (± 1 minggu), tiga jenis tanaman Solanaceae tersebut diamati gejala penyakit yang muncul, lalu dipotret berdampingan dengan tanaman yang sehat sebagai kontrol. Parameter yang diamati yakni tinggi dan jumlah daun tanaman. Tanaman uji tersebut kemudian diambil masing-masing sampel daunnya untuk dilakukan deteksi kembali dengan teknik PCR.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, maka kesimpulan yang dapat diambil sebagai berikut:

1. *Begomovirus* pada terung ungu dapat dideteksi berdasarkan gen AV1 (*coat protein*) secara molekuler menggunakan teknik PCR.
2. Berdasarkan analisis pohon filogenetik, *Begomovirus* asal tanaman terung ungu termasuk ke dalam spesies *Tomato yellow leaf curl Kanchanaburi virus* (TYLCKaV) dan mempunyai variasi genetik yang berbeda dengan spesies *Begomovirus* pada tanaman lain.
3. *Begomovirus* asal tanaman terung ungu dapat menginfeksi tanaman cabai merah keriting dan tomat rampai.

5.2 Saran

Saran yang dapat peneliti berikan kepada peneliti selanjutnya yakni perlu dikembangkan sistem deteksi untuk menentukan spesies *Begomovirus* pada tanaman terung ungu dengan menggunakan *spesific primers* melalui teknik PCR agar proses deteksi lebih efektif dan efisien.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Aidawati, N., Hidayat, S.H., Suseno, R. and Sosromarsono, S. 2002. Transmission of an Indonesian isolate of *Tobacco leaf curl virus* (*Geminivirus*) by *Bemisia tabaci* Genn. (Hemiptera: Aleyrodidae). *The Plant Pathology Journal*. 18: 231–236.
- Akin, H.M. 2006. *Virologi Tumbuhan*. Kanisius. Yogyakarta.
- Akin, H.M. 2021. *Virologi Tumbuhan Edisi 2*. Graha Ilmu. Yogyakarta.
- An, J.W., Lee, J.H., Choi, S., Venkatesh, J., Kim, J.M., Kwon, J.K. and Kang, B.C. 2020. Identification of the determinant of *Tomato yellow leaf curl Kanchanaburi virus* infectivity in tomato. *Virus Research*. 291: 1–31.
- Annisaa, N.W., Hidayat, P., Giyanto, Hidayat, S.H. and Lee, S. 2021. Multiple infections of *Begomovirus* on its host plants. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 694: 1–7.
- Assion, S.M., Kodjovi, A.D.-K., Kossikouma, D.A., Jerome, D. and Yawovi, M.D.G. 2017. Molecular characterization of genetic diversity of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) *Begomovirus* in Togo. *Journal of General and Molecular Virology*. 7: 1–9.
- Bela-ong, D.B. and Bajet, N.B. 2007. Molecular detection of whitefly-transmissible *Geminiviruses* (family Geminiviridae, genus *Begomovirus*) in the Philippines. *Philippine Journal of Science*. 136: 87–101.
- Bornancini, V.A., Irazoqui, J.M., Flores, C.R., Vaghi Medina, C.G., Amadio, A.F. and López Lambertini, P.M. 2020. Reconstruction and characterization of full-length *Begomovirus* and alphasatellite genomes infecting pepper through metagenomics. *Viruses*. 12: 1–20.
- Brown, J.K. 2007. *The Bemisia tabaci complex: Genetic and phenotypic variation and relevance to TYLCV-vector interactions*. Springer. Tucson, Arizona.

- 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. and Varsani, A. 2015. Revision of *Begomovirus* taxonomy based on pairwise sequence comparisons. *Archives of Virology*. 160: 1593–1619.
- Brown, J.K. and Czosnek, H. 2002. Whitefly transmission of plant viruses. *Advances in Botanical Research*. 36: 65–100.
- Brown, J.K., Idris, A.M., Torres-Jerez, I., Banks, G.K. and Wyatt, S.D. 2001. The core region of the coat protein gene is highly useful for establishing the provisional identification and classification of *Begomoviruses*. *Archives of Virology*. 146: 1581–1598.
- Daidoji, T., Morales Vargas, R.E., Hagiwara, K., Arai, Y., Watanabe, Y., Nishioka, K., Murakoshi, F., Garan, K., Sadakane, H. and Nakaya, T. 2021. Development of genus-specific universal primers for the detection of *Flaviviruses*. *Virology Journal*. 18: 1–13.
- De Barro, P.J., Hidayat, S.H., Frohlich, D., Subandiyah, S. and Ueda, S. 2008. A virus and its vector, *Pepper yellow leaf curl virus* and *Bemisia tabaci*, two new invaders of Indonesia. *Biological Invasions*. 10: 411–433.
- Fauquet, C.M. and Stanley, J. 2005. Revising the way we conceive and name viruses below the species level: A review of *Geminivirus* taxonomy calls for new standardized isolate descriptors. *Archives of Virology*. 150: 2151–2179.
- Fauquet, C.M. and Fargette, D. 2005. International committee on taxonomy of viruses and the 3,142 unassigned species. *Virology Journal*. 2: 1–10.
- Gafni, Y. 2003. Tomato yellow leaf curl virus, the intracellular dynamics of a plant DNA virus. *Molecular Plant Pathology*. 4: 9–15.
- Ghanim, M., Morin, S. and Czosnek, H. 2001. Rate of *Tomato yellow leaf curl virus* translocation in the circulative transmission pathway of its vector, the whitefly *Bemisia tabaci*. *Phytopathology*. 91: 188–196.
- Gutierrez, C. 2000. *Geminiviruses* and the plant cell cycle. *Plant Molecular Biology*. 43: 763–772.
- Gutierrez, C. 2002. Strategies for *Geminivirus* DNA replication and cell cycle interference. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 60: 219–230.
- Handoyo, D. dan Rudiretna, A. 2001. Prinsip umum dan pelaksanaan polymerase chain reaction (PCR). *Unitas*. 9: 17–29.

- Hartitz, M.D., Sunter, G. and Bisaro, D.M. 1999. The tomato golden mosaic virus transactivator (TrAP) is a single-stranded DNA and zinc-binding phosphoprotein with an acidic activation domain. *Virology*. 263: 1–14.
- Hasyim, A., Setiawati, W. dan Liferdi, L. 2016. Kutu kebul *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae) penyebar penyakit virus mosaik kuning pada tanaman terung. *Iptek Hortikultura*. 9: 50–54.
- Hull, R. 2009. *Comparative Plant Virology*. Academic Press. Norwich, UK.
- Iserte, J.A., Stephan, B.I., Goñi, S.E., Borio, C.S., Ghiringhelli, P.D. and Lozano, M.E. 2013. Family-specific degenerate primer design: a tool to design consensus degenerated oligonucleotides. *Biotechnology Research International*. 2013: 1–9.
- Janssen, D., Ruiz, L., Garcia, C. and Meijer, R.J.M. 2016. Viruses transmitted by the whitefly *Bemisia tabaci* in organic greenhouse crops. *Plant Health*. 1: 1–2.
- Juliantono, I., Somowiyarjo, S., Trisyono, Y.A. and Daryono, B.S. 2010. Disease incidence of melon leaf curl in East Java and Special Province of Yogyakarta. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. 16: 76–81.
- Kandito, A., Hartono, S., Sulandari, S.R.I., Somowiyarjo, S. and 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: 129–136.
- Kintasari, T., Septariani, D., Sulandari, S. dan Hidayat, S. 2013. *Tomato yellow leaf curl Kanchanaburi virus* penyebab penyakit mosaik kuning pada tanaman terung di Jawa. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. 9: 127–131.
- Koeda, S., Homma, K., Tanaka, Y., Kesumawati, E., Zakaria, S. and Kanzaki, S. 2017. Highly efficient agroinoculation method for tomato plants with *Tomato yellow leaf curl Kanchanaburi virus*. *Horticulture Journal*. 86: 479–486.
- Kushwaha, N.K., Bhardwaj, M. and Chakraborty, S. 2017. The replication initiator protein of a *Geminivirus* interacts with host monoubiquitination machinery and stimulates transcription of the viral genome. *PLoS Pathogens*. 13: 1–41.
- Kusumaningrum, F., Hartono, S., Sulandari, S. and Somowiyarjo, S. 2015. Double infections of *Begomovirus* and *Crinivirus*. *Perlindungan Tanaman Indonesia*. 19: 60–64.
- Lazarowitz, S.G. 1992. *Geminiviruses: genome structure and gene function*. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 11: 327–349.

- Li, R., Salih, S. and Hurtt, S. 2004. Detection of *Geminiviruses* in sweetpotato by polymerase chain reaction. *Plant Disease*. 88: 1347–1351.
- Li, Y., Mbata, G.N., Punnuri, S., Simmons, A.M. and Shapiro-Ilan, D.I. 2021. *Bemisia tabaci* on vegetables in the Southern United States: incidence, impact, and management. *Insects*. 12: 1–29.
- Mehta, P., Wyman, J.A., Nakhla, M.K. and Maxwell, D.P. 1994. Polymerase chain reaction detection of viruliferous *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) with two tomato-infecting *Geminiviruses*. *Journal of Economic Entomology*. 87: 1285–1290.
- Morin, S., Ghanim, M., Zeidan, M., Czosnek, H., Verbeek, M. and Heuvel, J.F.J.M. Van Den 1999. A GroEL homologue from endosymbiotic bacteria of the whitefly *Bemisia tabaci* is implicated in the circulative transmission of *Tomato yellow leaf curl virus*. *Virology*. 256: 75–84.
- Mudmainah, S. dan Purwanto. 2010. Deteksi *Begomovirus* pada tanaman cabai merah dengan I-ELISA test dan teknik PCR. *Jurnal Agroland*. 17: 101–107.
- Navot, N., Pichersky, E., Zeidan, M., Zamir, D. and Czosnek, H. 1991. *Tomato yellow leaf curl virus*: a whitefly-transmitted *Geminivirus* with a single genomic component. *Virology*. 185: 151–161.
- Polston, J.E. and Anderson, P.K. 1997. The emergence of whitefly transmitted *Geminiviruses* in tomato in the western hemisphere. *Plant Disease*. 81: 1358–1359.
- Pratap, D., Kashikar, A.R. and Mukherjee, S.K. 2011. Molecular characterization and infectivity of a *Tomato leaf curl New Delhi virus* variant associated with newly emerging yellow mosaic disease of eggplant in India. *Virology Journal*. 8: 1–13.
- Revell, P.A., Ha, C. V., Porchun, S.C., Vu, M.T. and Dale, J.L. 2003. The complete nucleotide sequence of two distinct *Geminiviruses* infecting cucurbits in Vietnam. *Archives of Virology*. 148: 1523–1541.
- Rojas, M.R. 1993. Use of degenerate primers in the polymerase chain reaction to detect whitefly-transmitted *Geminiviruses*. *Plant Disease*. 77: 340.
- Roumagnac, P., Granier, M., Bernardo, P., Deshoux, M., Ferdinand, R., Galzi, S., Fernandez, E., Julian, C., Abt, I., Filloux, D., Mesléard, F., Varsani, A., Blanc, S., Martin, D.P. and Peterschmitt, M. 2015. *Alfalfa leaf curl virus*: an aphid-transmitted *Geminivirus*. *Journal of Virology*. 89: 9683–9688.
- Rusli, E.S., Hidayat, S.H., Suseno, R. dan Tjahjono, B. 1999. Virus gemini pada cabai: variasi gejala dan studi cara penularan. *Buletin Hama dan Penyakit Tumbuhan*. 11: 26–31.

- Santoso, T.J. 2008. *Identifikasi Begomovirus Indonesia pada Tomat dan Analisis Diversitas Genetik Gen AV1 serta Pemanfaatannya untuk Pengembangan Tanaman Tahan Virus*. Thesis, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Santoso, T.J., Hidayat, S.H. dan Herman, M. 2013. Aplikasi teknik polymerase chain reaction (PCR) menggunakan primer degenerate dan spesifik gen AV1 untuk mendeteksi *Begomovirus* pada tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *J. Hort. Indonesia*. 4: 140–149.
- Sharma, S., Rabindran, R., Robin, S.I. and Dasgupta, I. 2010. Analysis of the complete DNA sequence of rice tungro bacilliform virus from southern India indicates it to be a product of recombination. *Archives of Virology*. 156: 2257–2262.
- Snehi, S.K., Purvia, A.S., Parihar, S.S., Gupta, G., Singh, V. and Raj, S.K. 2017. Overview of *Begomovirus* genomic organization and its impact. *International Journal of Current Research*. 9: 61368–61380.
- Sudiono. 2012. Penyebaran penyakit kuning pada tanaman cabai di Kabupaten Tanggamus dan Lampung Barat. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*. 13: 1–7.
- Sudiono dan Purnomo 2009. Hubungan antara populasi kutu kebul dan penyakit kuning pada cabai di Lampung Barat. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika*. 9: 115–120.
- Sudiono, Yasin, N., Hidayat, S.H. dan Hidayat, P. 2005. Penyebaran dan deteksi molekuler virus Gemini penyebab penyakit kuning pada tanaman cabai di Sumatera. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika*. 5: 113–121.
- Sulandari, S., Suseno, R., Hidayat, S.H., Harjosudarmo, J. dan Sosromarsono, S. 2006. Deteksi dan kajian kisaran inang virus penyebab penyakit daun keriting kuning cabai. *HAYATI Journal of Biosciences*. 13: 1–6.
- Suryanto, D. 2003. Melihat keanekaragaman organisme melalui beberapa teknik genetika molekuler. *USU Digital Library*. 1–11.
- Tang, Y.F., He, Z.F., Du, Z.G. and Lu, L.H. 2013. First Report of *Tomato yellow leaf curl Kanchanaburi virus* infecting eggplant in Laos. *Plant Disease*. 98: 428.
- Trisno, J., Rifqah, R.A. dan Martinius, M. 2014. Penyakit kerupuk tembakau di Sumatera Barat. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. 10: 210–213.
- Van Regenmortel, M.H.V., Mayo, M.A., Fauquet, C.M. and Maniloff, J. 2000. Virus nomenclature: consensus versus chaos. *Archives of Virology*. 145: 2227–2232.

- Varma, A. and Malathi, V.G. 2003. Emerging *Geminivirus* problems: a serious threat to crop production. *Annals of Applied Biology*. 142: 145–164.
- Varsani, A., Roumagnac, P., Fuchs, M., Navas-Castillo, J., Moriones, E., Idris, A., Briddon, R.W., Rivera-Bustamante, R., Murilo Zerbini, F. and Martin, D.P. 2017. *Capulavirus* and *Grablovirus*: two new genera in the family *Geminiviridae*. *Archives of Virology*. 162: 1819–1831.
- Widarta, H., Hartono, S., Sulandari, S., Hertanto, C. and Anastasia, E. 2017. Integrated leaf curl disease control on tobacco plants in Klaten, Central Java. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. 21: 10.
- Wilisiani, F., Somowiyarjo, S. dan Hartono, S. 2014. Identifikasi molekuler virus penyebab penyakit daun keriting isolat bantul pada melon. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. 18: 47–54.
- Windarningsih, M. 2018. Penyebaran penyakit virus daun menguning dan keriting pada cabai rawit di Kabupaten Lombok Utara. *CROP AGRO, Scientific Journal of Agronomy*. 11: 145.
- Windarningsih, M., Fauzi, M.T., Rohyadi, A. dan Muthahanas, I. 2018. Penyebaran penyakit virus daun menguning dan keriting pada cabai rawit di Kabupaten Lombok Utara. *CROP AGRO, Scientific Journal of Agronomy*. 11: 145–150.
- Wyatt, S.D. and Brown, J.K. 1996. Detection of subgroup III *Geminivirus* isolates in leaf extracts by degenerate primers and polymerase chain reaction. *Phytopathology*. 86: 1288–1293.