

Deteksi *Squash mosaic virus* pada Lima Varietas Mentimun (*Cucumis sativus* L.)

*Squash mosaic virus Detection on Five Cucumber (*Cucumis sativus* L.) Varieties*

Erika Rosminim Purba¹, Susanti Mugi Lestari¹, Yudia Nurhaelena¹,
dan Sri Hendrastuti Hidayat^{1*}

Diterima 23 Mei 2017/Disetujui 24 Juli 2017

ABSTRACT

Squash mosaic virus (SqMV) is a seed-borne pathogen which infect many *Cucurbitaceae* crops. Infection of SqMV has been reported from several vegetable growing areas in Indonesia. The objective of this research was to determine the percentage of seed-borne SqMV on five cucumber varieties i.e. 'Jupiter', 'Venus', 'Japan File', 'Vario', and 'Calista' and the effect of SqMV infection on mosaic disease development. Five cucumber varieties were mechanically inoculated with SqMV, followed by observation on symptom development, incubation period, and disease incidence. Seed-borne virus was detected by Dot Immunobinding Assay (DIBA) and indirect Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) methods following growing-on test. The plants showed varied symptoms including green mosaic, green-yellow mosaic, vein clearing, and fruit malformation. Disease severity and virus titer showed general trend, i.e. low during inflorescence period and increasing on fruiting period; with the exception on 'Japan File' which showed decreasing of disease severity since generative phase. All commercial seeds (F1) tested evidently infected by SqMV with high incidence (100%), whereas infection of SqMV on F2 seeds of 'Venus' reached 60.87%.

Keywords: DIBA, disease incidence, ELISA, seed transmission, virus titer

ABSTRAK

Squash mosaic virus (SqMV) adalah patogen terbawa benih yang banyak menginfeksi tanaman *Cucurbitaceae*, dan keberadaannya di Indonesia sudah meluas. Tujuan penelitian ialah mengetahui persentase SqMV terbawa benih pada lima varietas mentimun yaitu 'Yupiter', 'Venus', 'Japan File', 'Vario', dan 'Calista' dan mengetahui pengaruh infeksi SqMV terhadap perkembangan penyakit mosaik. Lima varietas mentimun diinokulasi dengan SqMV secara mekanis kemudian diamati gejala yang muncul, periode inkubasi, dan insidensi penyakit. Pengujian virus terbawa benih dilakukan dengan menumbuhkan benih, selanjutnya deteksi virus dilakukan menggunakan metode *Dot Immunobinding Assay* (DIBA) dan *indirect Enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA). Tanaman mentimun menunjukkan gejala infeksi SqMV yang bervariasi yaitu mosaik hijau, mosaik kuning hijau, pemucatan tulang daun, dan malformasi pada buah. Pengamatan keparahan penyakit dan titer virus menunjukkan pola perkembangan penyakit mosaik yaitu menurun pada fase berbunga dan meningkat lagi pada fase berbuah, kecuali varietas Japan File memberikan respons yang berbeda karena penurunan keparahan penyakit berlanjut sejak fase generatif. Benih komersial (F1) yang banyak digunakan petani terbukti membawa SqMV dengan infeksi mencapai 100% dan tanaman varietas 'Venus' yang terinfeksi SqMV menghasilkan benih keturunan (F2) yang membawa SqMV dengan efisiensi mencapai 60.87%.

Kata kunci: DIBA, ELISA, insidensi penyakit, titer virus, tular benih

¹Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor
Jl. Kamper, Kampus IPB Darmaga, Bogor, 16680, Indonesia
*email: srihendrastutihidayat@gmail.com (penulis korespondensi)

PENDAHULUAN

Mentimun (*Cucumis sativus* L.) merupakan salah satu tanaman dari famili labu-labuan atau *Cucurbitaceae* dan merupakan salah satu jenis sayur yang cukup populer di hampir semua negara. Meskipun bukan tanaman asli Indonesia, mentimun banyak dibudidayakan di Indonesia dengan tingkat konsumsi yang cukup tinggi. Daerah Bogor memiliki kondisi alam yang sesuai untuk budidaya mentimun yaitu dengan ketinggian 190 - 330 meter di atas permukaan laut (m dpl), suhu rata-rata tiap bulan 26 °C, dan kelembaban udara 80% (BMKG, 2017) sehingga tidak sedikit petani Bogor yang membudidayakan tanaman mentimun. Budidaya tanaman mentimun kini mengalami kendala yaitu iklim dan cuaca yang tidak menentu dan gangguan hama serta penyakit, diantaranya *Begomovirus* (Haerunisa, 2016) dan *Squash mosaic virus* (SqMV). Menurut Campbell (1985), tanaman *C. melo*, *C. sativus*, *Cucurbita pepo*, *C. moschata*, dan *C. maxima* yang terinfeksi SqMV menunjukkan gejala berupa mosaik sistemik. Pada gejala lanjut, SqMV menyebabkan penurunan produksi dan malformasi buah. Infeksi SqMV di lapangan terjadi dengan bantuan serangga vektor yaitu kumbang dari famili Chrysomelidae (*Acalymma thiemei thiemei*, *Diabrotica* sp. dan *Aulacophora similis*) dan Coccinellidae (*Epilechna chryssomelina*).

Peraturan Menteri Pertanian Nomor 51/Permentan/KR.010/9/2015 tentang Jenis Organisme Pengganggu Tumbuhan Karantina (OPTK) menetapkan status SqMV sebagai OPTK golongan A2 yang masih terbatas di wilayah Jawa Barat (Kementan, 2015). Rezania (2005) melakukan penelitian dan melaporkan bahwa SqMV ditemukan pada pertanaman melon di Tajur, Bogor. Selanjutnya, Lestari dan Nurhayati (2014) melaporkan bahwa SqMV telah menginfeksi benih mentimun sebanyak 100%. Beberapa faktor yang dapat memicu kemunculan penyakit baru pada suatu wilayah adalah perubahan kondisi iklim (Ahanger *et al.*, 2013), teknik budidaya tanaman, dan lalu lintas bahan tanaman antar wilayah (Hanssen *et al.*, 2010). Mengingat sifat SqMV yang terbawa benih, tidak menutup kemungkinan bila sumber infeksi SqMV di Indonesia berasal dari benih sayuran impor. Oleh karena itu

penelitian dilakukan untuk mengetahui efisiensi SqMV terbawa benih pada beberapa varietas mentimun yang umum ditanam petani dan pengaruh infeksi SqMV pada mentimun terhadap perkembangan penyakit mosaik di rumah kaca.

BAHAN DAN METODE

Penanaman dan Pemeliharaan Tanaman Mentimun Uji

Benih mentimun yang digunakan terdiri atas lima varietas yaitu 'Vario' F1, 'Calista' F1, 'Venus', 'Yupiter', dan 'Japan File'. Media tanam yang digunakan yaitu campuran tanah dan pupuk kandang (1:1) yang telah disterilkan. Media tanam diisikan ke dalam polibag berukuran 35 cm x 35 cm, selanjutnya benih mentimun ditanam pada kedalaman 3 cm. Sebelum ditanam, benih terlebih dahulu direndam dalam fungisida berbahan aktif benomil selama 1 jam lalu ditiriskan. Pupuk NPK (15:15:15) diberikan dua tahap, yaitu tahap pertama diberikan 1 minggu setelah inokulasi (2 MST sebanyak 7 g setiap polibag) dan tahap kedua diberikan setelah bunga anthesis (15 g setiap polibag). Penyiraman dilakukan setiap pagi hari.

Pemasangan ajir bambu dilakukan pada umur 2 MST. Batang mentimun diikat pada tali sehingga tanaman dapat merambat. Buah yang dipanen untuk kepentingan konsumsi adalah buah yang telah matang penuh ditandai dengan warna hijau yang seragam. Buah yang dipanen dengan kepentingan sebagai benih adalah buah mentimun yang tua, ditandai dengan warna kulit buah sudah putih atau kuning tergantung varietas.

Inokulasi SqMV pada Lima Varietas Mentimun

Inokulasi dilakukan pada tanaman berusia 7 hari setelah tanam. Sumber inokulum adalah isolat SqMV berasal dari tanaman mentimun di Situ Gede, Bogor, Jawa Barat dan telah dimurnikan di Laboratorium Virologi Tumbuhan, Departemen Proteksi Tanaman, IPB. Tahapan inokulasi diawali dengan persiapan cairan perasan (sap) tanaman sakit. Sebanyak 0.2 g daun tanaman sakit digerus dalam larutan penyanga fosfat dengan perbandingan 1:10 (b v⁻¹). Inokulasi

dilakukan pada kotiledon tanaman yang telah ditaburi dengan karborundum (600 mesh) dengan cara mengoleskan sap tanaman sakit pada permukaan kotiledon menggunakan jari. Setelah pengolesan, kotiledon tersebut dibilas dengan aquades mengalir. Tahapan inokulasi dilakukan terhadap 10 tanaman untuk setiap varietas.

Pengamatan dilakukan terhadap periode inkubasi dan insidensi penyakit. Periode inkubasi adalah waktu gejala pertama kali muncul setelah tanaman diinokulasi. Insidensi penyakit untuk setiap varietas dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ insidensi penyakit} =$$

$$\frac{\text{Jumlah tanaman terserang}}{\text{Jumlah tanaman yang diamati}} \times 100\%$$

Pengamatan terhadap perkembangan penyakit mosaik dilakukan dengan mengamati perkembangan gejala yang muncul dan pengukuran titer virus pada masa vegetatif (2 MST), masa berbunga (4 MST), dan masa berbuah (8 MST). Pengukuran titer virus dilakukan dengan metode *indirect-ELISA* (Dijkstra dan de Jager, 1998).

Deteksi SqMV Terbawa Benih

Pada penelitian ini dilakukan pengujian untuk mengetahui jumlah benih yang membawa SqMV. Pengujian terhadap benih dibedakan menjadi dua bagian yaitu pengujian terhadap benih komersial (F1) dan pengujian terhadap benih dari tanaman F1 di rumah kaca. Benih yang diuji ditumbuhkan pada media tanam di tempat pembibitan hingga berusia 7 hari setelah tanam. Bagian tanaman yang digunakan untuk pengujian adalah daun pertama yang muncul. Total benih yang diuji untuk setiap varietas mentimun berjumlah 30 benih. Deteksi SqMV dilakukan dengan metode DIBA (*Dot Immunobinding Assay*) dan ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*) (Albrechtsen, 2006; Dijkstra dan de Jager, 1998). Persentase virus terbawa benih dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ virus terbawa benih} =$$

$$\frac{\text{Jumlah benih terinfeksi}}{\text{Jumlah benih yang ditanam}} \times 100\%$$

Metode *indirect-ELISA*

Metode *indirect-ELISA* dilakukan berdasarkan Dijkstra dan de Jager (1998). Teknik deteksi diawali dengan tahapan persiapan antigen. Antigen disiapkan dengan menggerus 0.2 g daun mentimun dalam plastik tebal dan ditambah GEB (*general extract buffer*) pH 7.4. Perbandingan daun dengan GEB adalah 1:10 (b v⁻¹). Sebanyak 100 µL antigen diisikan pada sumuran plat mikrotiter, kemudian diinkubasi semalam pada suhu 4 °C. Setelah inkubasi, cairan dalam plat mikrotiter dibuang dan diisi dengan 100 µL skim milk 2%. Plat mikrotiter lalu diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37 °C kemudian dicuci menggunakan 200 µL PBST (*phosphate buffer saline Tween-20*) sebanyak lima kali.

Tahap deteksi selanjutnya adalah menyiapkan antiserum SqMV yaitu dengan mengencerkan antiserum SqMV dalam *conjugate buffer* dengan perbandingan 1:200. Sebanyak 100 µL antiserum diisikan ke dalam setiap sumuran plat mikrotiter lalu diinkubasi selama 2 jam pada suhu 37 °C. Plat mikrotiter dicuci kembali dengan PBST sebanyak lima kali. Masing-masing sumuran lalu diisi dengan 100 µL campuran antibodi kedua (*goat anti rabbit-IgG, Agdia*). Antibodi ini telah dilabel dengan *phosphatase* dan diencerkan dalam *conjugate buffer* dengan perbandingan 1:5000. Plat mikrotiter diinkubasi kembali selama 2 jam pada suhu 37 °C lalu dicuci dengan PBST.

Tahap deteksi selanjutnya adalah mengisi plat mikrotiter dengan 100 µL substrat PNP (*para-nitrophenyl phosphate*) dan diinkubasi selama 30 sampai 60 menit pada suhu ruang. Apabila warna berubah kuning, maka reaksi segera dihentikan dengan 50 µL NaOH 3 M. Hasil ELISA diukur dengan menggunakan *ELISA reader* (*Bio-rad model 550 microplate reader*) pada panjang gelombang 405 nm. Hasil ELISA dinyatakan positif jika nilai absorbansi sampel yang diuji 2 kali lebih besar dari nilai kontrol negatif tanaman sehat.

Metode DIBA (*Dot Immunobinding Assay*)

Metode DIBA dilakukan berdasarkan Albrechtsen (2006). Membran nitroselulosa (*Hybond™ -P*, Amersham Bioscience UK) sebelum digunakan direndam dalam metanol 100% selama 10 detik dan dikering anginkan. Jaringan daun tanaman yang diduga terinfeksi

SqMV digerus dalam *tris buffer saline* (TBS) dengan perbandingan 1:10 ($b\text{ v}^{-1}$) (TBS: Tris-HCl 0.02 M dan NaCl 0.15 M, pH 7.5). Cairan perasan tanaman tersebut selanjutnya diteteskan ke atas membran nitroselulosa sebanyak 10 μL . Setelah tetesan sampel kering, membran direndam di dalam 10 mL larutan *blocking non fat milk* 2% dalam TBS yang mengandung Triton X-100 dengan konsentrasi akhir 2%. Membran kemudian diinkubasi pada suhu ruang sambil digoyang dengan kecepatan 50 rpm selama 2 jam menggunakan shaker (EYELA multi shaker MMS). Membran kemudian dicuci 5 kali dengan dH₂O, tiap pencucian berlangsung 5 menit sambil digoyang dengan kecepatan 100 rpm. Membran selanjutnya direndam dalam 5 mL TBS yang mengandung 5 μL antiserum SqMV ditambah *non fat milk* dengan konsentrasi akhir 2% dan kemudian membran diinkubasi semalam pada suhu kamar sambil digoyang dengan kecepatan 50 rpm. Membran kemudian dicuci sebanyak 5 kali dengan *Tween* 0.05% dalam TBS (TBST). Membran selanjutnya direndam dalam 5 mL TBS yang mengandung konjugat 5 μL (*goat antirabbit-IgG*, Agdia) ditambah *non fat milk* dengan konsentrasi akhir 2% dan kemudian membran diinkubasi selama 60 menit sambil digoyang dengan kecepatan 50 rpm. Membran selanjutnya dicuci kembali dengan TBST, kemudian membran direndam selama 5 menit dalam *substrate buffer* (Tris-HCl 0.1 M, NaCl 0.1 M dan MgCl 5 mM) yang mengandung *nitro blue tetrazolium* (NBT) 66 μL dan *bromo chlоро indolit phosphate* (BCIP) 30 μL . Bila reaksi positif akan terjadi perubahan warna putih menjadi ungu pada membran nitroselulosa yang telah ditetesi cairan perasan tanaman dan reaksi dapat dihentikan dengan merendam membran dengan dH₂O.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Infeksi SqMV pada Lima Varietas Mentimun

Gejala infeksi SqMV umumnya muncul tujuh hari setelah inokulasi, yaitu berupa mosaik hijau ringan. Perkembangan gejala SqMV pada masa pertumbuhan vegetatif, masa berbunga, dan berbuah bervariasi antar varietas (Tabel 1). Perbedaan gejala infeksi SqMV pada lima varietas mentimun disebabkan oleh beberapa faktor, yaitu kondisi fisiologi tanaman, varietas, dan umur tanaman.

Respons tanaman terhadap infeksi virus dapat dilihat dari gejala yang muncul. Respons yang relatif sama ditunjukkan oleh mentimun varietas ‘Venus’, ‘Yupiter’, ‘Calista’, dan ‘Vario’. Gejala infeksi SqMV pada tanaman fase vegetatif tidak berbeda jauh dengan gejala pada fase berbunga. Ada kecenderungan terjadi fenomena *recovery* karena gejala infeksi pada fase berbunga lebih ringan dibandingkan pada fase vegetatif. Pada fase berbuah, gejala yang muncul menjadi semakin parah. *Recovery* merupakan peristiwa pemulihan pada tanaman terinfeksi virus. Fenomena *recovery* dicirikan oleh adanya gejala infeksi awal yang parah, kemudian semakin menurun hingga hilang atau tidak bergejala pada daun yang baru berkembang (Bengyella *et al.*, 2015). Lebih lanjut, Hagen *et al.* (2008) menyebutkan bahwa pada peristiwa *recovery*, titer virus biasanya mengalami penurunan yang dipengaruhi oleh faktor tanaman inang dan strain virus. Pada penelitian ini, fenomena *recovery* yang paling jelas ditunjukkan oleh tanaman mentimun varietas ‘Japan File’. Gejala yang muncul semakin menurun setelah masa berbunga.

Tabel 1. Perkembangan gejala infeksi SqMV pada lima varietas mentimun sejak masa pertumbuhan vegetatif sampai generatif

Varietas	Masa Pertumbuhan		
	Vegetatif	Berbunga	Berbuah
‘Venus’	Mosaik hijau	Mosaik hijau kuning	Pemucatan tulang daun dan buah normal
‘Yupiter’	Mosaik hijau	Mosaik kuning	Mosaik hijau kuning dan buah normal
‘Vario’	Mosaik hijau	Mosaik hijau kuning	Mosaik hijau kuning yang jelas dan terdapat benjolan pada buah
‘Calista’	Warna daun pucat	Mosaik hijau kuning	Mosaik hijau kuning yang jelas pada daun dan buah
‘Japan File’	Mosaik ringan	Pemucatan tulang daun	Mosaik hijau pada daun dan warna buah pucat

Tabel 2. Rata-rata nilai absorbansi ELISA *Squash mosaic virus* pada tiga fase pertumbuhan tanaman mentimun

Fase Pertumbuhan	Varietas				
	'Venus'	'Yupiter'	'Japan File'	'Vario'	'Calista'
Vegetatif (2 MST)	1.56 a	1.49 a	1.52 a	1.38 a	1.47 a
Berbunga (4 MST)	0.89 a	1.15 a	1.28 a	0.91 a	0.89 a
Berbuah (8 MST)	1.44 a	1.30 a	0.88 a	1.43 a	1.37 a

Keterangan: nilai yang diikuti huruf sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada α (taraf nyata) 5%.

Titer virus pada tiap varietas mentimun yang diuji diestimasi berdasarkan pengukuran nilai absorbansi ELISA (Tabel 2). Nilai titer virus berubah selama perkembangan tanaman, tetapi tidak berbeda nyata secara analisis statistika. Dilaporkan oleh Cafrune *et al.* (2006) bahwa perubahan titer virus terjadi pada *Garlic virus A* (GarV-A) pada tanaman bawang putih seiring perkembangan tanaman. Titer virus tertinggi terjadi pada masa awal dan akhir pertumbuhan tanaman bawang putih, sementara pada fase pertengahan titer virus cenderung turun. Menurunnya titer virus dapat dikaitkan dengan kemampuan virus melakukan replikasi di dalam jaringan tanaman. Kitayama *et al.* (2015) membuktikan bahwa penurunan jumlah virion *Brome mosaic virus* (BMV) pada padi berkaitan dengan penundaan gejala infeksi.

Berdasarkan pengukuran nilai absorbansi hasil ELISA dapat pula ditentukan persentase insidensi penyakit untuk tiap varietas (Tabel 3). Secara umum perkembangan penyakit akibat SqMV pada lima varietas sama seperti perkembangan titer virus (Tabel 2). Penurunan terjadi ketika tanaman mengalami fase berbunga kemudian naik ketika fase berbuah, yaitu pada varietas 'Venus' dan 'Calista'. Hal tersebut dapat dihubungkan dengan proses fisiologis tanaman. Pada fase berbunga menuju berbuah, metabolisme tanaman meningkat untuk proses reproduksi dan pengisian buah sehingga sistem ketahanan tanaman menurun

(Alazem dan Lin, 2015). Hormon yang berperan dalam perkembangan dan pematangan buah yaitu auksin, giberelin, dan sitokin. Jumlah hormon auksin dan sitokin meningkat pada biji seiring perkembangan buah dimana pembelahan sel terjadi (Kumar *et al.*, 2014). Namun, hormon auksin bersifat negatif terhadap sistem pertahanan tanaman karena memiliki efek antagonis terhadap asam salisilat, yaitu senyawa fenolik yang disintesis oleh tanaman sebagai respons ketahanan terhadap infeksi patogen (Vlot *et al.*, 2009).

Pengujian SqMV Terbawa Benih

Pada tahap DIBA seluruh sampel memberikan reaksi berwarna ungu yang jelas. Hal ini menunjukkan bahwa seluruh benih (100%) dari tiap varietas positif membawa SqMV. Pengujian benih yang diperoleh dari tanaman F1 hanya dapat dilakukan untuk varietas 'Venus', karena varietas 'Vario', 'Calista', dan 'Japan File' sulit tumbuh; sementara varietas 'Yupiter' merupakan varietas lokal akan tetapi benihnya tidak mampu tumbuh, kemungkinan diakibatkan oleh infeksi virus yang memengaruhi vigor benih yang dihasilkan. Berdasarkan hasil DIBA yang dilakukan untuk benih varietas 'Venus' didapatkan 14 benih dari 24 benih (60.87%) yang bereaksi positif terhadap SqMV.

Tabel 3. Insidensi penyakit mosaik yang disebabkan oleh *Squash mosaic virus* pada tiga fase pertumbuhan tanaman

Varietas	Insidensi Penyakit (%)		
	Vegetatif (2 MST)	Berbunga (4 MST)	Berbuah (8 MST)
'Venus'	33	25	100
'Yupiter'	66	75	100
'Japan File'	33	100	25
'Vario'	0	25	100
'Calista'	66	25	100

Menurut Sastry (2013) terdapat hubungan antara waktu inokulasi dengan infeksi pada benih. Semakin cepat tanaman terinfeksi maka jumlah benih yang membawa virus akan semakin tinggi. Tanaman yang terinfeksi virus setelah masa berbunga akan menghasilkan benih bebas virus. Pada penelitian dengan mentimun, tanaman diinokulasi SqMV sejak tujuh hari setelah tanam sehingga virus telah menginfeksi sejak awal pertumbuhan. Infeksi dini tersebut dapat mempengaruhi pertumbuhan tanaman, buah yang dihasilkan, dan benih yang membawa virus.

Hasil pengujian SqMV terbawa benih sangat penting untuk diinformasikan kepada masyarakat luas terutama petani pengguna, produsen benih (lokal) dan importir benih, serta Balai Pengawasan dan Sertifikasi Benih Tanaman Pangan dan Hortikultura (BPSB TPH). Program sertifikasi benih di Indonesia masih terfokus pada aspek agronomis yaitu kemurnian, kadar air, dan viabilitas benih (Anwar *et al.*, 2005); sementara pengujian kesehatan benih di negara maju pada umumnya sudah rutin dilakukan. Menurut ISTA (*International Seed Testing Association*) kriteria sertifikasi benih tidak hanya didasarkan pada kemurnian, daya kecambah, keseragaman bentuk, dan kadar air, tetapi juga bebas dari hama dan penyakit.

KESIMPULAN

Tanaman mentimun yang terinfeksi SqMV menunjukkan gejala dengan kecenderungan penurunan keparahan penyakit pada fase berbunga dan peningkatan keparahan penyakit pada fase berbuah. Benih komersial (F1) yang banyak digunakan petani terbukti membawa SqMV dengan efisiensi mencapai 100% sehingga berpotensi menjadi sumber inokulum di lapangan dan dapat memengaruhi pertumbuhan tanaman. Berdasarkan pembuktian efisiensi SqMV terbawa benih yang cukup tinggi diperlukan pengujian kesehatan benih khususnya untuk benih yang diimpor maupun benih komersial yang banyak digunakan petani.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahanger, R.A., H.A. Bhat, T.A. Bhat, S.A. Ganie, A.A. Lone, I.A. Wani, S.A. Ganai, S. Haq, O.A. Khan, J.M. Junaid, T.A. Bhat. 2013. Impact of climate change on plant diseases. *Inter. J. Mod. Plant. Anim. Sci.* 1(3): 105-115.
- Alazem M, N.S. Lin. 2014. Roles of plant hormones in the regulation of host-virus interactions. *Mol. Plant. Path.* 16(5): 529-540.
- Albrechtsen, S.E. 2006. *Testing Methods for Seed-Transmitted Viruses: Principles and Protocols*. CABI Publishing, Wallingford.
- Anwar, A., Sudarsono, S. Ilyas. 2005. Perbenihan sayuran di Indonesia: kondisi terkini dan prospek bisnis benih sayuran. *Bul. Agron.* 33: 38-47.
- Bengyella, L., S.D. Waikhom, F. Allie, C. Rey. 2015. Virus tolerance and recovery from viral induced-symptoms in plants are associated with transcriptome reprogramming. *Plant. Mol. Biol.* DOI 10.1007/s11103-015-0362-6.
- [BMKG]. Badan Meteorologi Klimatologi dan Geofisika. Stasiun Klimatologi Bogor. Data Iklim. Indonesia, Bogor.
- Cafrune, E.E., M. Balzarini, V.C. Conci. 2006. Changes in the concentration of an Allexivirus during the crop cycle of two garlic cultivars. *Plant. Dis.* 90: 1293-1296.
- Campbell, R.N. 1985. *Squash mosaic comovirus*. University of Idaho.
- Dijkstra, J., C.P. de Jager. 1998. *Practical Plant Virology-Protocol and Exercise*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Berlin.
- Haerunisa, R., G. Suastika, T.A. Damayanti. 2016. Identifikasi *Begomovirus* yang berasosiasi dengan penyakit kuning pada mentimun di Jawa Barat dan Bali. *J. Hort. Indonesia*. 7(1): 9-20.

- Hagen, C., M.R. Rojas, T. Kon, R.L. Gilbertson. 2008. Recovery from *Cucurbit leaf crumple virus* (family *Geminiviridae*, genus *Begomovirus*) infection is an adaptive antiviral response associated with changes in viral small RNAs. *Phytopathol.* 98: 1029-1037.
- Hanssen, I.M., M. Lapidot, B.P.H.J. Thomma. 2010. Emerging viral diseases of tomato crops. *Mol. Plant-Mic. Interac.* 23(5):539-548.
- [ISTA]. *International Seed Testing Association*. 2017. International Rules for Seed Testing. The International Seed Testing Association, Bassersdorf.
- [Kementeran]. Kementerian Pertanian Republik Indonesia. 2015. Peraturan Menteri Pertanian Nomor 51/Permentan/KR.010/9/2015 tentang Perubahan atas Peraturan Menteri Pertanian Nomor 93/Permentan/OT.140/12/2011 tentang Jenis Organisme Pengganggu Tumbuhan Karantina. Menteri Pertanian Republik Indonesia, Jakarta.
- Kitayama, M, H. Hoover, S. Middleton, C.C Kao. 2015. *Brome mosaic virus* infection of rice results in decreased accumulation of RNA1. *Mol. Plant. Microb. Interact.* 28(5):626-632.
- Kumar, R, A. Khurana, A.K. Sharma. 2014. Role of plant hormones and their interplay in development and ripening of fleshy fruits. *J. Experiment. Bot.* 65(16): 4561-4575.
- Lestari, S.M., E. Nurhayati. 2014. Efisiensi tular benih *Squash mosaic virus* pada *Cucurbitaceae*. *J. Fitopatol Indonesia.* 10(3): 81-86.
- Rezania, F. 2005. Tingkat ketahanan sembilan galur *Cucumis melo* L. terhadap *Squash mosaic comovirus*. [Skripsi]. Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Sastray, K.S. 2013. *Seed-Borne Plant Virus Diseases*. Springer, New Delhi.
- Vlot, A.C., D.A. Dempsey, D.F. Klessig. 2009. Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease. *Annu. Rev. Phytopathol.* 47: 177-206.