

# Deteksi Virus Tungro pada Gulma Padi Sawah Menggunakan Teknik PCR

## *Rice Tungro Virus Detection on Weeds using PCR Techniques*

Fausiah T. Ladja<sup>1</sup>, Sri Hendrastuti Hidayat<sup>2</sup>, Tri Asmira Damayanti<sup>2</sup>, Aunu Rauf<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Loka Penelitian Penyakit Tungro

Jl. Bulu Lanrang Rappang Sidrap, Sulawesi Selatan, Indonesia

<sup>2</sup>Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor

Jl. Dramaga, Bogor, Indonesia

E-mail: uchi\_tungro@yahoo.co.id

---

Naskah diterima 26 Maret 2015, direvisi 11 Januari 2016, disetujui 22 Januari 2016

---

### ABSTRACT

*Virus tungro disease is a serious problem to rice crop in a certain area of rice production in Indonesia. The disease is caused by a combined infection of Rice Tungro Bacilliform Virus (RTBV) and Rice Tungro Spherical Virus (RTSV). Both viruses were reported to infect ratoon rice plants, weeds, and wild rice. The study was conducted to detect RTBV and RTSV on some weeds. Weed samples were collected from rice fields in West Java, Bali, West Nusa Tenggara, Papua, and West Sumatera. The detection of RTBV and RTSV were carried out using Polymerase Chain Reaction (PCR) and Reverse Transcription (RT) – PCR, employing coat protein gene specific primers. RTBV specific DNA fragment of ~1400 bp size was successfully amplified from various weed species including: *F. miliacea*, *C. iria*, *M. vaginalis*, *L. adscendens*, *S. zeylanica*, *D. sanguinalis*, and *E. crusgalli*. RTSV specific DNA fragment of ~787 bp size was successfully amplified from weed species of *F. miliacea*, *L. octovalvis*, and *D. sanguinalis*. RTBV or RTSV specific DNA fragment was not amplified from *L. flava* and *P. distichum*. Weed samples infected by both viruses did not show any tungro symptom. Virus detection based on molecular technique was able to determine the status of weed whether it is as an alternate host of viruses. Weeds sanitation prior to rice planting, therefore, should be considered as an integral part of virus disease management.*

*Keywords: rice, tungro, weeds, alternative host.*

### ABSTRAK

Tungro yang disebabkan oleh kombinasi infeksi *Rice Tungro Bacilliform Virus* (RTBV) dan *Rice Tungro Spherical Virus* (RTSV), merupakan salah satu penyakit penting tanaman padi. Kedua virus tersebut dapat bertahan hidup pada tanaman padi, ratun padi, gulma, dan beberapa padi liar. Penelitian bertujuan mendeteksi RTBV dan RTSV pada beberapa spesies gulma yang dikumpulkan dari beberapa lokasi persawahan di Jawa Barat, Bali, Nusa Tenggara Barat, Sulawesi Selatan, Sulawesi Barat, Sulawesi Utara, dan Sumatera Selatan. Deteksi RTBV dan RTSV dari sampel gulma dilakukan berturut-turut dengan metode *Polymerase Chain Reaction*

(PCR) dan *Reverse Transcription* (RT) - PCR menggunakan primer spesifik gen protein selubung. Fragmen DNA spesifik RTBV berukuran ~1.400 pb berhasil diamplifikasi dari *F. miliacea*, *C. iria*, *M. vaginalis*, *L. adscendens*, *S. zeylanica*, *D. sanguinalis*, dan *E. crusgalli*. Fragmen DNA spesifik RTSV berukuran ~787 pb berhasil diamplifikasi dari sepsis gulma *F. miliacea*, *L. octovalvis*, dan *D. sanguinalis*. Fragmen DNA spesifik RTBV maupun RTSV tidak teramplifikasi dari spesies gulma *L. flava* dan *P. distichum*. Sampel gulma yang dikumpulkan dari lapangan tidak ada yang menunjukkan gejala (visual) terinfeksi virus, sehingga hasil deteksi bermanfaat dalam menentukan status gulma sebagai inang alternatif virus tungro. Sanitasi gulma di sawah sebelum tanam padi menjadi bagian integral teknik pengendalian virus.

Kata kunci: padi, penyakit tungro, gulma, inang alternatif.

### PENDAHULUAN

Salah satu penyakit penting tanaman padi di Indonesia adalah tungro, yang disebabkan oleh kerja sinergis dua jenis virus, yaitu *Rice Tungro Bacilliform Virus* (RTBV) dan *Rice Tungro Spherical Virus* (RTSV) (Tiongco and Sebastian 2008). Penularan dan penyebaran penyakit tungro bergantung pada keberadaan serangga vektor utama, yaitu wereng hijau (*Nephotettix virescens*). Tanaman padi yang terinfeksi RTBV dan/atau RTSV akan memperlihatkan gejala yang khas, bergantung pada jenis virus yang menginfeksi. Umumnya, tanaman padi yang terinfeksi kedua virus tersebut menunjukkan gejala kerdil, warna daun menguning sampai oranye yang dimulai dari ujung daun muda, anakan berkurang, malai sedikit atau tidak terbentuk dan gabah yang terbentuk kadang steril, dan perkembangan akar terhambat (Azzam and Chancellor 2002).

Selain tanaman padi, ratun padi, beberapa spesies gulma, dan padi liar juga dilaporkan sebagai inang

alternatif virus ini. RTBV dan RTSV dapat menginfeksi beberapa jenis gulma yang tergolong spesies rumput, berdaun lebar, dan teki (Ladja 2013, Yulianto *et al.* 1999, Khan *et al.* 1991, Pajarean *et al.* 1990, Anjaneluyu *et al.* 1988). Berbeda dengan tanaman padi, gulma yang terinfeksi RTBV dan/atau RTSV tidak memperlihatkan gejala yang khas (Ladja 2013, Khan *et al.* 1991). Untuk mengetahui potensi gulma sebagai sumber penularan virus tungro, diperlukan teknik yang akurat dalam mendeteksi RTBV dan RTSV dari gulma di lapangan.

Virus tungro pada tanaman padi dan gulma dapat dideteksi dengan berbagai teknik, termasuk cara konvensional dan molekuler, dengan tingkat sensitivitas yang berbeda. Takahashi *et al.* (1991) mendeteksi virus tungro pada tanaman padi dengan empat teknik serologi dan menemukan teknik Enzym-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) lebih sensitif dibandingkan dengan *simplified ELISA*, uji latex (*latex flocculation test*), dan uji hemaglutinasi (*passive hemagglutination test*). Virus tungro juga berhasil dideteksi dari tanaman padi dan serangga vektor, wereng hijau dengan teknik PCR (Takahashi *et al.* 1993).

Teknik deteksi asam nukleat dengan *polymerase chain reaction* (PCR) merupakan salah satu teknik deteksi yang banyak dikembangkan saat ini. Metode PCR digunakan untuk deteksi target virus dengan genom DNA, sedangkan metode *Reverse Transcription* (RT)-PCR digunakan untuk target virus dengan genom RNA. Dibanding teknik deteksi lainnya, teknik ini sangat sensitif dan akurat (Takahashi *et al.* 1993). Virus tungro RTBV maupun RTSV telah berhasil dideteksi dengan PCR (Thomson *et al.* 1995, Tiogco and Flores 2008) dan RT-PCR (Azzam *et al.* 2000). Sensitivitas dan keakuratan teknik PCR dan RT-PCR juga telah dibuktikan pada beberapa penyakit virus tanaman hortikultura (Nurulita dan Suastika 2013, Kintasari *et al.* 2013, Septariani *et al.* 2014).

RTBV yang memiliki genom berupa DNA utas ganda (dsDNA) dapat dideteksi dengan metode PCR, sedangkan RTSV yang memiliki genom berupa RNA utas tunggal (ssRNA) dapat dideteksi dengan metode RT-PCR (Hull 2008). Pengetahuan mengenai spesies gulma yang berpotensi sebagai inang alternatif virus tungro (RTBV dan/atau RTSV) sangat penting dalam menyusun strategi pengendalian penyakit tungro guna melengkapi teknik pengendalian yang telah ada.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui spesies gulma pada pertanaman padi sawah yang berpotensi sebagai inang alternatif virus tungro RTBV dan/atau RTSV, menggunakan teknik PCR.

## BAHAN DAN METODE

### Pengambilan Sampel Gulma

Berdasarkan sebaran wilayah endemik penyakit tungro, sampel gulma dikumpulkan dari tujuh provinsi sentra produksi padi. Sampel gulma diambil secara acak dari sekitar pertanaman padi di beberapa daerah endemis penyakit tungro, yaitu Desa Samarang, Kabupaten Garut (Jawa Barat), Kecamatan Abiansema, Badung (Bali), Kecamatan Narmada, Kabupaten Lombok Barat (Nusa Tenggara Barat), Kecamatan Panca Rijang, Kabupaten Sidrap (Sulawesi Selatan), Kecamatan Matakali, Kabupaten Polman (Sulawesi Barat), Kecamatan Tumpa, Kabupaten Minahasa Selatan (Sulawesi Utara), dan Kecamatan Koto IX, Kabupaten Pesisir Selatan (Sumatera Barat). Sampel gulma dibersihkan, dimasukkan ke dalam kantong plastik dan disimpan pada suhu  $-80^{\circ}\text{C}$  agar awet sampai digunakan untuk deteksi RTBV dan RTSV. Pengumpulan sampel dilakukan pada April 2013 sampai Oktober 2013.

### Deteksi RTBV dengan Teknik PCR

Deteksi RTBV diawali dengan ekstraksi DNA total dari masing-masing sampel gulma, dilanjutkan dengan amplifikasi DNA, dan visualisasi hasil amplifikasi menggunakan elektroforesis. Ekstraksi DNA total menggunakan metode *Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide* (CTAB) (Doyle and Doyle 1990). Amplifikasi RTBV menggunakan sepasang primer spesifik gen selubung protein, yaitu primer DAF (5'-GGAATTCGGCCCTCAAAAACCTAGAAG-3') dan DAR (5'-GGGGGTACCCCTCCGATTTCCCATGTATG-3'), dengan target produk amplifikasi 1.400 pb.

Reaksi PCR dibuat dengan total volume 25  $\mu\text{l}$  yang mengandung 8,5  $\mu\text{l}$  ddH<sub>2</sub>O, 12,5  $\mu\text{l}$  DreamTaq Green PCR Master mix, 1  $\mu\text{l}$  primer DAR 10 M, 1  $\mu\text{l}$  primer DAF 10 M, dan 2  $\mu\text{l}$  DNA. Proses amplifikasi terdiri atas denaturasi awal selama 5 menit pada  $94^{\circ}\text{C}$ , dilanjutkan dengan 34 siklus amplifikasi, meliputi denaturasi 1 menit pada  $94^{\circ}\text{C}$ , penempelan primer (*annealing*) selama 1 menit pada  $62,2^{\circ}\text{C}$ , sintesis selama 2 menit pada  $72^{\circ}\text{C}$ , kemudian untuk tahapan sintesis akhir ditambah 10 menit pada  $72^{\circ}\text{C}$ . Hasil amplifikasi divisualisasi dengan elektroforesis pada gel agarosa 1% (TBE) dengan pewarnaan *ethidium bromide* (0,5  $\mu\text{g/ml}$ ) selama  $\pm 15$  menit. Hasil visualisasi DNA pada *UV transilluminator* kemudian didokumentasikan dengan kamera digital.

### Deteksi RTSV dengan Teknik RT-PCR

Tahapan deteksi RTSV diawali dengan ekstraksi RNA total dari masing-masing sampel gulma, dilanjutkan dengan

tahap transkripsi balik untuk memperoleh cDNA, amplifikasi cDNA, dan visualisasi hasil amplifikasi. Ekstraksi RNA total menggunakan metode CTAB (Doyle and Doyle 1990). RNA total hasil ekstraksi digunakan sebagai pola (*template*) dalam reaksi transkripsi balik untuk menghasilkan cDNA (*complementary DNA*). Reaksi transkripsi balik dibuat dengan total volume 10  $\mu$ l yang mengandung 2  $\mu$ l RNA total, 2  $\mu$ l bufer RT 10X, 0,35  $\mu$ l 50 mM DTT (*dithiothreitol*), 2  $\mu$ l 10 mM dNTP (*deoksiribonukleotida triphosphat*), 0,35  $\mu$ l M-MuLV Rev, 0,35  $\mu$ l RNase inhibitor, 0,75  $\mu$ l oligo (dT), dan 2,2  $\mu$ l ddH<sub>2</sub>O. Reaksi transkripsi balik dilakukan pada suhu 25°C selama 5 menit, dilanjutkan pada suhu 42°C selama 60 menit, dan terakhir pada 70°C selama 15 menit, cDNA yang dihasilkan digunakan sebagai DNA templet dalam reaksi amplifikasi.

Amplifikasi cDNA untuk RTSV menggunakan sepasang primer spesifik yang mengamplifikasi daerah selubung protein, yaitu RTSV-F2 (GAAGAAGCCTATCATGTTCGCGT) dan RTSV-R2 (CCTCCACGATATTGTACGAG) dengan target produk berukuran 787 pb. Reaksi pada PCR dibuat dengan total volume 25  $\mu$ l yang mengandung 8,5  $\mu$ l ddH<sub>2</sub>O, 12,5  $\mu$ l DreamTaq Green PCR Master mix, 1  $\mu$ l primer RTSV-F2 10 M, 1  $\mu$ l primer RTSV-R2 10 M, dan 2  $\mu$ l cDNA.

Proses amplifikasi didahului oleh denaturasi awal selama 5 menit pada suhu 94°C, dilanjutkan dengan 34 siklus meliputi tahap denaturasi pada suhu 94°C selama 1 menit, penempelan primer (*annealing*) pada suhu 50°C selama 1 menit, sintesis pada suhu 72°C selama 2 menit, kemudian ekstensi pada 72°C selama 10 menit. Visualisasi DNA hasil amplifikasi menggunakan metode seperti yang diuraikan sebelumnya.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

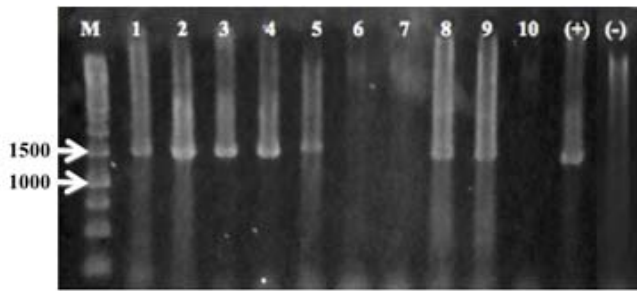
Kondisi pertanaman padi di beberapa lokasi sangat beragam dalam hal intensitas penularan tungro dan sanitasi pertanaman pada saat pengambilan sampel gulma. Populasi gulma yang lebih tinggi ditemukan di Bali dan Nusa Tenggara Barat. Sebanyak 10 spesies gulma berhasil dikoleksi dari tujuh provinsi di Indonesia (Tabel 1). Keragaman gulma di areal persawahan kemungkinan dipengaruhi oleh faktor ekologi, sistem pengolahan tanah, teknik persemaian, pengairan, dan edafik (Juraimi *et al.* 2013).

Fragmen DNA spesifik RTBV berukuran ~1.400 pb berhasil diamplifikasi dari gulma *F. miliacea*, *C. iria*, *M. vaginalis*, *L. adscendens*, *S. zeylanica*, *D. sanguinalis*, dan *E. crusgalli* (Gambar 1). Sementara fragmen DNA spesifik RTSV berukuran ~787 pb berhasil diamplifikasi dari gulma *F. miliacea*, *L. octovalvis*, dan *D. sanguinalis* (Gambar 2). Berdasarkan hasil deteksi tersebut diketahui infeksi RTBV lebih banyak ditemukan dibandingkan dengan infeksi RTSV (Tabel 2). Empat spesies gulma, yaitu *C. iria*, *M. vaginalis*, *L. adscendens*, *S. zeylanica*, terinfeksi secara bersama oleh RTBV dan RTSV. Dua spesies lainnya, yaitu *L. flava* dan *P. distichum* tidak terinfeksi oleh RTBV maupun RTSV. Hasil deteksi RTBV dan RTSV dari sampel gulma padi mendukung hasil penelitian sebelumnya yang menunjukkan gulma di sekitar pertanaman padi berpotensi sebagai inang alternatif virus tungro. Dilaporkan *C. rotundus*, *E. indica*, *F. miliaceae*, *P. niruri*, *J. repens*, *T. portulacastrum*, *P. niruri*, *C. rotundus*, *M. vaginalis*, dan *L. hexandra* mampu menjadi inang alternatif bagi RTBV maupun RTSV (Ladja 2013; Yulianto *et al.* 1999). Selain itu juga dilaporkan infeksi RTSV dan RTBV dapat terjadi secara bersama atau tunggal pada beberapa spesies padi liar.

Tabel 1. Spesies gulma yang ditemukan pada pertanaman padi di beberapa lokasi survei.

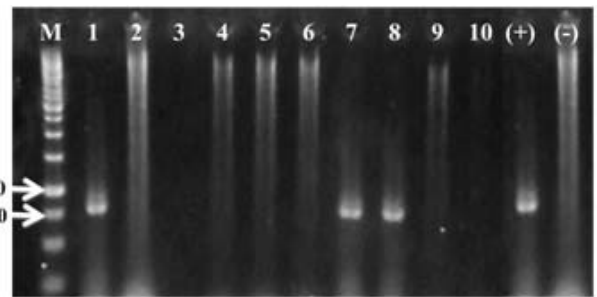
Spesies gulma (nama lokal)	Keberadaan gulma						
	Jabar (Garut)	Sulsel (Sidrap)	Sulbar (Polman)	Sulut (Minahasa Selatan)	Bali (Badung)	NTB (Lombok Barat)	Sumsel (Pesisir Selatan)
<i>Fimbristylis miliacea</i> (Adas-adasan)	D	D	TD	D	D	TD	TD
<i>Cyperus iria</i> (Dekeng)	D	TD	D	TD	TD	D	D
<i>Monochoria vaginalis</i> (Eceng padi)	TD	D	TD	D	D	TD	D
<i>Ludwigia adscendens</i> (Rubah sila)	D	D	TD	TD	D	D	TD
<i>Sphenoclea zeylanica</i> (Gonda)	D	TD	D	D	TD	D	TD
<i>Limnocharis flava</i> (Genjer)	TD	TD	TD	D	D	TD	D
<i>Lugwigia octovalvis</i> (Cacabean)	D	TD	TD	TD	D	D	TD
<i>Digitaria sanguinalis</i> (Genjoran)	D	TD	D	TD	D	D	TD
<i>Echinochloa crusgalli</i> (Jajagoan)	TD	D	TD	TD	D	D	D
<i>Paspalum distichum</i> (Grintingan)	D	TD	TD	D	D	TD	D

D = ditemukan; TD = tidak ditemukan.



Gambar 1. Visualisasi amplifikasi sebagian gen selubung protein RTBV dengan PCR menggunakan primer RTBV-DA F dan RTBV DA R.

M= Marker 1 kb DNA ladder. M= Marker, 1= Adas-adasan, 2= Dekeng, 3= Eceng padi, 4= Rubah sila, 5= Gonda, 6= Genjer, 7= Cacabeaan, 8= Genjoran, 9= Jajagoan, 10= Grintingan, (+)= Kontrol positif, (-)= Kontrol negatif



Gambar 2. Visualisasi amplifikasi sebagian gen selubung protein RTSV dengan RT-PCR menggunakan primer RTSV-F2 dan RTSV-R2.

M= Marker 1 kb DNA ladder. M= Marker, 1= Adas-adasan, 2= Dekeng, 3= Eceng padi, 4= Rubah sila, 5= Gonda, 6= Genjer, 7= Cacabeaan, 8= Genjoran, 9= Jajagoan, 10= Grintingan, (+)= Kontrol positif, (-)= Kontrol negatif

Sampel gulma yang terinfeksi virus tungro tidak menunjukkan gejala visual. Spesies tersebut adalah adas-adasan, dekeng, eceng padi, rubah sila, gonda, cacabeaan, genjoran, dan jajagoan. Penelitian Ladja (2013) terhadap penularan virus tungro pada beberapa spesies gulma memberikan hasil serupa, yaitu tidak ada perubahan bentuk atau warna daun pada gulma yang terinfeksi. Khan *et al.* (1991) melakukan percobaan penularan virus tungro menggunakan *N. virescens* dan *N. nigropictus* pada delapan spesies gulma, dan hanya satu spesies (*E. colona*) yang menunjukkan gejala pertumbuhan terhambat dan anakan berkurang.

Semua sampel gulma yang bereaksi positif pada deteksi RTBV atau RTSV berasal dari Bali dan Nusa Tenggara Barat. Kemungkinan besar hal ini terkait dengan wilayah endemis tungro pada pertanaman padi di tempat pengambilan sampel gulma. Pada saat pengambilan sampel, pertanaman padi di Bali dan NTB terlihat kurang terpelihara. Persaingan ruang antara tanaman padi dan gulma cukup terlihat dan tingkat insidensi penyakit tungro pada kedua lokasi tersebut tergolong sangat parah (>90%). Selain itu, kondisi lahan yang hampir kering mendukung mobilitas serangga vektor dari satu tanaman ke tanaman lain. Di daerah lain, terutama Sulawesi Barat, kondisi pertanaman agak bersih dari gulma dan insidensi penyakit tungro tidak terlalu parah (sekitar 30%). Keberhasilan deteksi virus juga ditentukan oleh kondisi sampel gulma. Beberapa sampel gulma kurang baik sehingga tidak didapatkan hasil ekstraksi asam nukleat yang memadai untuk PCR atau RT-PCR.

Gulma yang berada di sekitar persawahan telah diketahui menjadi tempat berlindung wereng hijau dan beberapa serangga predatornya. Seperti yang dilaporkan Khan *et al.* (1991), enam jenis gulma yang berasosiasi dengan virus tungro dan serangga vektornya adalah *E.*

Tabel 2. Deteksi infeksi RTBV dan RTSV menggunakan PCR dan RT-PCR pada 10 spesies gulma.

Spesies gulma	Jumlah sampel yang terinfeksi oleh virus	
	RTBV	RTSV
<i>Fimbristyls miliacea</i> (Adas-adasan)	1	1
<i>Cyperus iria</i> (Dekeng)	1	0
<i>Monochoria vaginalis</i> (Eceng padi)	1	0
<i>Ludwigia adscendens</i> (Rubah sila)	1	0
<i>Sphenoclea zeylanica</i> (Gonda)	1	0
<i>Limnocharis flava</i> (Genjer)	0	0
<i>Lugwigia octovalvis</i> (Cacabeaan)	0	1
<i>Digitaria sanguinalis</i> (Genjoran)	2	1
<i>Echinochloa crusgalli</i> (Jajagoan)	1	0
<i>Paspalum distichum</i> (Grintingan)	0	0

*crusgalli*, *E. glabrescens*, *E. colona*, *L. hexandra*, *C. rotundus*, dan *Panicum repens*. Pengelolaan lingkungan di sekitar persawahan perlu diperhatikan untuk menekan penyebaran penyakit tungro dan menjaga keseimbangan populasi serangga vektor tungro melalui konservasi musuh alaminya.

### KESIMPULAN

Spesies gulma yang ditemukan di persawahan sentra produksi padi di Jawa Barat, Bali, Nusa Tenggara Barat, Sulawesi Selatan, Sulawesi Barat, Sulawesi Utara, dan Sumatera Barat berpotensi sebagai inang alternatif virus tungro.

Infeksi RTBV berhasil dideteksi dari enam spesies gulma (*F. miliacea*, *C. iria*, *M. vaginalis*, *L. octovalvis*, *S. zeylanica*, *D. sanguinalis*, dan *E. crusgalli*), sedangkan

Infeksi RTSV berhasil dideteksi dari tiga spesies gulma (*F. miliacea*, *L. octovalvis*, dan *D. sanguinalis*). Berarti spesies gulma tersebut berpotensi sebagai inang alternatif virus tungro.

Sanitasi gulma sebelum tanam padi menjadi tindakan yang komplementer dengan pengendalian penyakit tungro.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian kerja sama yang didanai oleh Program Kerja Sama Kemitraan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Nasional (KKP3N) 2013-2015. Oleh karena itu disampaikan terima kasih kepada penyandang dana Program KKP3N.

### DAFTAR PUSTAKA

- Anjaneyulu, A., R.D. Daquiao, M.E. Masina, H. Hibino, R.T. Lugihan, and K. Moody. 1988. Host plant of rice tungro (RTV) associated viruses. *International Rice Research Newsletter* 13(4):30-31.
- Azzam, O. and T.C.B. Chancellor. 2002. The biology, epidemiology, and management of rice tungro disease in Asia. *Plant Disease* 85(2):88-105.
- Azzam, O., M.L.M. Yambao, M. Muhsin, K.L. McNally, and K.M.L. Umadhay. 2000. Genetic diversity of rice tungro spherical virus in tungro-endemic provinces of the Philippines and Indonesia. *Archives of Virology* 145:1183-1197.
- Doyle, J.J. and J.L. Doyle. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12:13-15.
- Hull, R. 2008. Rice tungro disease. *Encyclopedia of Virology* (third eds). Academic Press. p.481-485.
- Jones, M.C., K. Gough, I. Dasgupta, B.L. Subba Rao, J. Cliffe, R. Qu, P. Shen, M. Kaniewska MM. Blakebrpough, J.W. Davies, R.N. Beachy, and R. Hull. 1991. Rice tungro disease is caused by an RNA and a DNA virus. *Journal of General Virology* 72:757-761. (Tanya Penulis, karena tidak ada di narasi)
- Juraimi, A.S., M.K. Uddin, M.P. Anwar, M.T.M. Mohamed, M.R. Ismail, and A. Man. 2013. Sustainable weed management in direct seeded rice culture: a review. *Australian Journal of Crop Science* 7(7):989-1002.
- Khan, M.A., H. Hibino, V.M. Aguiro, and R.D. Daquiao. 1991. Rice and weed hosts of rice tungro-associated and leafhopper vectors. *Plant Disease* 75(9):926-930.
- Kintasari, T., D.W.N. Septariani, S. Sulandari, and S.H. Hidayat. 2013. Tomato yellow leaf curl Kanchanaburi virus penyebab penyakit mosaik kuning pada tanaman terung di Jawa. *Jurnal Fitopatologi Indonesia* 9(4):127-131.
- Ladja, F.T. 2013. Gulma inang virus tungro dan kemampuan penularannya ke tanaman padi. *Jurnal Penelitian Pertanian Tanaman Pangan* 32(3):187-191. Puslitbangtan. Bogor.
- Nurulita, S. And G. Suastika. 2013. Identifikasi tomato infectious chlorosis virus dan tomato chlorosis virus melalui reverse transcription polymerase chain reaction dan analisis sikuen nukleotida. *Jurnal Fitopatologi Indonesia* 9(4):107-115.
- Parejarearn, A., D. Chettanachit, M. Putta, W. Rattanakarn, J. Arayapan, and S. Disthaporn. 1990. Hosts of rice tungro-associated viruses (RTVs) in Thailand. *International Rice Research Newsletter* 15(6):21-22.
- Septariani, D.N., S.H. Hidayat, dan E. Nurhayati. 2014. Identifikasi penyebab penyakit daun keriting kuning pada tanaman mentimun. *Jurnal HPT Tropika* 14(1):80-86.
- Takahashi, Y., E.R. Tiongco, P.Q. Cabauatan, H. Koganezawa, H. Hibino, and T. Omura. 1993. Detection of rice tungro bacilliform virus by polymerase chain reaction for assessing mild infection of plants and viruliferous vector leafhoppers. *Phytopathology-New York and Baltimore Then St Paul-* 83:655-655.
- Takahashi, Y., T. Omura, K. Shohara, and T. Tsuchizaki. 1991. Comparison of four serological methods for practical detection of ten viruses of rice in plants and insects. *Plant Dis.* 75:458-461.
- Thomson, D. And R.G. Dietzgen. 1995. Detection of RNA and RNA plant viruses by PCR and RT-PCR using a rapid virus release protocol without tissue homogenization. *Journal of Virological Methods* 54:85-95.
- Tiongco, E.R. and L.S. Sebastian. 2008. A tale of two viruses. *In: The rice tungro viruses disease, A paradigm in Disease Management.* Tiongco ER, Angeles ER, Sebastian LS (*Eds.*). Philippine Rice Research Institute. p.1-14.
- Tiongco, E.R. and Z.M. Flores. 2008. Tungro diagnosis. *In: The Rice Tungro Viruses Disease, A Paradigm in Disease Management.* Tiongco ER, Angeles ER, Sebastian LS (*eds.*). Philippine Rice Research Institute. p.67-80.
- Yulianto, A. Hasanuddin, dan E. Sutisna. 1999. Uji eradikasi selektif gulma sebagai sumber inokulum virus tungro. *Prosiding Kongres Nasional XV dan Seminar Ilmiah Perhimpunan Fitopatologi Indonesia, Purwokerto.* p.286-289.

