

Arti Penting Penularan Virus Lewat Biji Kacang-kacangan dan Hubungannya dengan Sertifikasi dan Produksi Benih Sehat

Nasir Saleh¹⁾

ABSTRAK

Salah satu penyebab rendahnya produktivitas tanaman kacang-kacangan (kedelai, kacang tanah dan kacang hijau) di Indonesia adalah karena sebagian besar petani masih menggunakan benih asalan yang tidak terjamin kualitasnya. Benih sehat merupakan modal utama dalam usaha tani tanaman kacang-kacangan, namun sejauh ini kesehatan benih (terutama terhadap patogen virus) belum dimasukkan dalam program sertifikasi benih. Di Indonesia, di antara lebih dari 15 jenis penyakit virus yang menyerang tanaman kacang-kacangan, tujuh di antaranya ditularkan melalui biji. Penularan virus dari induk tanaman sakit terjadi melalui infeksi sel telur dan/atau tepungsari. Virus terdapat di dalam jaringan kulit biji atau embrio (kotiledon dan lembaga) biji terinfeksi. Sejauh ini belum ada usaha perlakuan benih secara fisik maupun kimiawi yang dapat menginaktivkan virus di dalam embrio tanpa mempengaruhi viabilitas benih tersebut. Penularan virus melalui biji terbukti memegang peranan penting dalam penyebaran dan perkembangan epidemi penyakit virus di lapang. Deteksi virus dalam biji dapat dilakukan dengan cara sederhana dengan mengamati langsung secara visual, uji ditumbuhkan, uji infektivitas hingga teknik serologi uji presipitasi, uji aglutinasi, *immunosorbent electron microscopy*, ELISA, RISA, dan *nucleic acid hybridization*. Permasalahan yang timbul dalam penerapan uji serologi adalah ketersediaan antiserum dan bahan-bahan kimia. Benih yang relatif bebas virus dapat diproduksi dengan cara menghindari sumber infeksi awal dengan mulai dengan penggunaan benih sehat, menghilangkan tanaman terinfeksi dan sumber infeksi lain di lapang, mencegah masuk dan tersebarnya virus ke pertanaman dengan isolasi tempat dan waktu, pengendalian vektor serta menanam varietas tahan atau yang tidak menularkan virus lewat biji. Sertifikasi kesehatan benih (terhadap patogen virus) sebaiknya diterapkan secara bertahap dalam program sertifikasi benih. Untuk itu pemurnian dan produksi antiserum virus kacang-kacangan perlu dilakukan di dalam negeri oleh lembaga penelitian/perguruan tinggi/swasta bersamaan dengan peningkatan SDM dan fasilitas

instansi yang terkait dengan produksi dan sertifikasi benih.

Kata kunci: Penularan virus; Biji kacang-kacangan; Sertifikasi; Produksi Benih.

ABSTRACT

The use of non-certified legume seeds (soybean, groundnut and mungbean) by farmers is one of the reason for low production. These farmers use seeds obtained from the previous harvest or from the local market. It is well understood that healthy seeds is the main prerequisite in legume production. Unfortunately, seed health testing (in the matter of viral diseases) is not included in seed certification programs. In Indonesia, there are at least 15 viruses known to infect legume crops and seven of them are transmitted through infected seeds. Virus seed-transmission usually occurred through the invasion of the virus in ovum or pollen of the infected plants. In the infected seeds, the virus was distributed in seed coat (testa), endosperm and embryo axis. There is no seed treatment both physically and chemically that effectively inactivate viruses in the embryo with no effect on seed viability. Virus seed-transmission plays an important role in spreading and developing of epidemic virus diseases in the fields. Detection on the presence of virus in legume seeds can be carried out using simple methods such as direct visual observation of the seeds, growing-on test, infectivity test, and serological test (micro-precipitation, agglutination, immunosorbent electron microscopy (IEM), enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) as well as nucleic acid hybridization. The potential problem in serological methods applied for routine seed health testing is the continuous availability of antiserum and chemical. A relatively virus-free legume seeds could be produced by preventing the presence of infection sources that can be initiated by the use of healthy seed stock, eradicating infected plants and other virus sources at the field, preventing the entrance and spreading of the virus to the plants by site and time isolation, managing the virus vectors and planting resistant varieties or variety that does not transmits virus through the seeds. Since virus seed-transmission is important, therefore, it should be seriously handled. Seed health testing (especially for viral diseases) is suggested to be gradually implemented as part of seed certification programs. Purification and production

¹⁾ Peneliti Hama dan Penyakit Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian, Kotak Pos 66 Malang 65101, Telp. (0341) 801468, e-mail:blitkabi@telkom.net

of antiserum should be carried out domestically by Research Institutes, Universities or private sector, along with the improvement of human resources as well as facilities available in the institutes who responsible for seed production and certification.

Key words: Virus seed-transmission; Soybean; Groundnut; Mungbean; Seed certification; Seed production.

PENDAHULUAN

Produktivitas tanaman kacang-kacangan di Indonesia masih rendah, yaitu sekitar 1,2 t/ha untuk kedelai, 1,1 t/ha untuk kacang tanah, dan 1,0 t/ha untuk kacang hijau (BPS, 2002). Salah satu penyebab rendahnya produktivitas kacang-kacangan di Indonesia adalah serangan berbagai penyakit virus. Meskipun data kerugian akibat infeksi virus pada tanaman kacang-kacangan belum terdokumentasi dengan baik, namun dari hasil penelitian diketahui bahwa beberapa penyakit virus dapat menyebabkan kehilangan hasil antara 20–60%, bahkan puso, tergantung jenis virus, varietas tanaman yang terinfeksi, dan umur pertanaman pada saat terinfeksi (Rahamma dan Hasanuddin, 1989; Baliadi dan Saleh, 1989; Saleh *et al.*, 1990; Muchsin, 1997). Infeksi virus pada pertanaman muda pada umumnya mengakibatkan kehilangan hasil yang lebih besar dibanding apabila infeksi pada umur yang lebih tua.

Penyebab lain rendahnya produktivitas tanaman kacang-kacangan adalah karena sebagian besar petani masih menggunakan benih asalan yang tidak jelas varietasnya maupun kualitasnya. Pada umumnya petani mendapatkan benih dari pertanaman musim sebelumnya, atau dari pedagang benih setempat. Seringkali benih tersebut kurang baik kualitasnya (tidak murni, tercampur benih gulma/kotoran, daya tumbuhnya rendah, dan tidak bebas patogen).

Benih merupakan modal utama dalam upaya produksi tanaman (termasuk tanaman kacang-kacangan). Selain kemurnian, kebersihan dari campuran biji-biji gulma dan mempunyai daya berkecambah yang tinggi, benih juga harus bebas dari infeksi dan kontaminasi patogen. Dari benih yang sehat diharapkan akan tumbuh tanaman yang sehat dan dapat berproduksi secara optimal. Namun, sejauh ini sertifikasi kesehatan benih, termasuk kesehatan dari infeksi patogen

virus, belum sepenuhnya dilaksanakan dalam program sertifikasi benih. Lebih dari itu ketersediaan benih kacang-kacangan bersertifikat masih terbatas sehingga sebagian besar petani menggunakan benih dengan kualitas seadanya.

Di alam, penyebaran virus yang menyerang tanaman kacang-kacangan dilakukan oleh berbagai jenis serangga vektor, terutama kelompok aphid, kutu kebul, dan kumbang, namun beberapa di antara virus tersebut dapat ditularkan lewat biji kedelai, kacang tanah dan kacang hijau. Penularan virus lewat biji (*seed transmitted*) terbukti memegang peranan penting dalam perkembangan epidemi penyakit virus di lapang.

Dalam makalah ini dibahas arti penting penularan virus lewat biji, mekanisme penularan, sertifikasi dan cara mendeteksi virus dalam biji dan upaya yang perlu dilakukan untuk menghasilkan benih yang relatif sehat.

ARTI PENTING PENULARAN VIRUS LEWAT BIJI

Di Indonesia, diketahui 15 penyakit tanaman kacang-kacangan (kedelai, kacang tanah, dan kacang hijau) yang disebabkan oleh patogen virus yaitu: *Soybean mosaic virus* (SMV), *Soybean stunt virus* (SSV), *Soybean dwarf virus* (SDV), *Bean yellow mosaic virus* (BYMV), *Bean common mosaic virus* (BCMV), *Blackeye cowpea mosaic virus* (BICMV), *Soybean yellow mosaic virus* (SYMV), *Peanut mottle virus* (PMoV), *Peanut stripe virus* (PStV), *Cowpea mild mottle virus* (CMMV), *Peanut mosaic virus* (PMV), *Peanut leaf curl*, *Peanut rugose*, *Mungbean mosaic virus* (MMV), dan *Blackgram mottle virus* (BGMV) (Roechan *et al.*, 1975; 1978a; 1978b; 1979; Iwaki *et al.*, 1977; Saleh *et al.*, 1986a).

Dari lebih kurang 15 jenis virus yang menyerang tanaman kacang-kacangan, sejauh ini hanya tujuh penyakit virus yang telah diteliti dan diketahui dapat ditularkan melalui biji yang dihasilkan dari tanaman sakit yaitu PMoV, PStV, SMV, SSV, MMV, BYMV, dan BGMV (Tabel 1).

Penularan virus lewat biji mempunyai arti yang sangat penting dalam penyebaran dan perkembangan epidemi penyakit virus di lapang (Neergard, 1977; Bos, 1978; Mandahar, 1981). Arti penting penularan virus lewat biji antara lain:

Tabel 1. Penyakit-penyakit virus yang ditularkan melalui biji tanaman kedelai, kacang tanah dan kacang hijau.

Tanaman	Virus	Penularan lewat biji (%)	Sumber
Kacang tanah	<i>Peanut Mottle Virus</i> (PMoV)	0,0–8,5	Triharso, 1975
	<i>Peanut Stripe Virus</i> (PStV)	0,3–3,6	Saleh dan Horn, 1989
Kedelai	<i>Soybean Mosaic Virus</i> (SMV)	16,7–75,0	Roechan, 1992
	<i>Soybean Stunt Virus</i> (SSV)	40,0–83,5	Roechan <i>et al.</i> 1975
Kacang hijau	<i>Mungbean Mosaic Virus</i> (MMV)	1,6	Iwaki dan Auzay, 1977
	<i>Bean Yellow Mosaic Virus</i> (BYMV)	0,8	Iwaki dan Auzay, 1977
	<i>Blackgram Mottle Virus</i> (BGMV)	0,7–1,3	Saleh <i>et al.</i> , 1986b

1. Penurunan kualitas benih

Sebagian biji yang dihasilkan dari tanaman kedelai yang terinfeksi SMV dan SSV mempunyai kulit biji belang (*lorek*) warna coklat. Meskipun daya berkecambah dari biji belang coklat tidak berbeda atau hanya sedikit berkurang, namun vigor benih yang berasal dari biji belang coklat lebih rendah dibanding benih kedelai yang kulit bijinya bersih (Rahayu, 1989; Wahyuni *et al.*, 1991; Harnowo dan Baliadi, 1995). Penelitian lebih lanjut terhadap komposisi biji menunjukkan bahwa infeksi SMV meningkatkan asam amino bebas dan menurunkan persentase minyak (Amrety *et al.*, 1985). Aktivitas enzim lipoxigenase pada biji belang juga lebih rendah dibandingkan pada biji yang tidak belang (Wahyuni *et al.*, 1991).

2.. Penyebaran virus antardaerah

Infeksi virus dalam biji akan membantu penyebaran virus antardaerah/negara/benua seiring dengan makin pesatnya transportasi lalu lintas benih. Di Amerika PStV dilaporkan ditemukan pertama kali pada pertanaman kacang tanah yang benihnya berasal dari RRC (Demski *et al.*, 1984). Di Indonesia, tersebar luasnya penyakit belang pada kacang tanah yang disebabkan PStV atau PMoV di daerah bukaan transmigrasi baru diduga berasal dari benih kacang tanah yang dibawa oleh para transmigran.

3. Penyebab bertahannya virus antarwaktu

Benih memberi jaminan kehidupan bagi virus sehingga memungkinkan virus bertahan dari musim (tahun) ke musim (tahun) berikutnya.

Virus mampu bertahan hidup sejalan dengan viabilitas benih. Rachmadi *et al.* (1987) melaporkan bahwa SSV masih infeksius setelah biji kedelai disimpan pada suhu kamar selama tiga bulan. Jalur benih antar lapang dan musim (JABALSIM) dapat berperan membantu penyebaran virus kacang-kacangan apabila benih tersebut mengandung virus.

4. Penyebaran benih di lapang

Benih yang terinfeksi virus akan menghasilkan kecambah yang sakit dan tersebar secara acak di lapang. Kecambah terinfeksi tersebut menjadi sumber utama penyebaran virus oleh serangga penular (vektor) di lapang.

5. Penurunan hasil

Selain sebagai sumber infeksi di lapang, infeksi virus pada stadia kecambah atau pada stadia tanaman umur muda akan mengakibatkan kerugian hasil yang lebih tinggi dibanding apabila infeksi terjadi pada tanaman yang lebih tua. Kedelai yang terinfeksi SMV pada umur 10 HST mengakibatkan kerugian hasil antara 29–41%, jauh lebih tinggi dibandingkan apabila tanaman terinfeksi pada umur 50 HST yang hanya mengakibatkan pengurangan hasil 2,5–4,5% (Rahayu, 1989; Sunartiningih *et al.*, 1991).

MEKANISME PENULARAN VIRUS LEWAT BIJI

Virus merupakan submikroorganisme yang sangat sederhana, tersusun dari inti berupa rangkaian asam nukleat (RNA atau DNA) yang bersifat infeksius dengan diselubungi mantel

protein. Secara umum virus tanaman hanya dapat “hidup” di dalam sel tanaman yang hidup, meskipun beberapa virus tertentu seperti *Tobacco Mosaic Virus* (TMV) bersifat sangat stabil dan mampu bertahan dalam keadaan inaktif pada daun tembakau sakit yang sudah kering. Infeksi virus pada umumnya bersifat sistemik, bergerak dari sel ke sel melalui plasmodesmata dan secara pasif bersama asimilat melalui jaringan pembuluh. Hal ini berarti bahwa virus tersebar ke seluruh jaringan tanaman yang sakit, termasuk bagian-bagian generatif tanaman yang berperan dalam pembentukan biji.

Infeksi virus pada tanaman terjadi melalui berbagai cara (pelukaan halus, serangga vektor) masuk ke dalam sel dan mampu melakukan perbanyakan (multiplikasi). Multiplikasi RNA/DNA dan mantel proteinnya terjadi secara terpisah yang pada akhirnya akan bersatu membentuk partikel virus baru. Multiplikasi virus pada umumnya terjadi di dalam jaringan-jaringan muda yang aktif melakukan metabolisme. Infeksi virus secara sistemik memungkinkan masuknya virus ke dalam biji yang terjadi melalui infeksi sel telur (ovum) maupun melalui tepungsari. Di dalam biji yang terinfeksi, SSV dideteksi berada dalam jaringan kulit biji, keping biji (*endosperm*) dan di embrio (lembaga) (Saleh *et al.*, 1987). PStV juga dapat dideteksi dengan ELISA secara konsisten dalam kotiledon dan sumbu embrio, namun tidak secara konsisten dalam kulit biji kacang tanah (Saleh dan Baliadi, 1989). BGMV ditemukan dalam konsentrasi yang tinggi dalam kulit biji kacang hijau, dan dalam konsentrasi yang rendah di dalam kotiledon dan sumbu embrio (Saleh *et al.*, 1986b).

FAKTOR-FAKTOR YANG BERPENGARUH TERHADAP INTENSITAS PENULARAN VIRUS LEWAT BIJI

Kemampuan virus untuk menginfeksi dan menular lewat biji ditentukan oleh strain virus, jenis tanaman dan varietas tanaman, umur tanaman pada saat terinfeksi virus dan beberapa faktor lingkungan terutama suhu selama pertumbuhan tanaman.

Strain Virus

Di Indonesia, penelitian pengaruh strain virus terhadap persentase penularan lewat biji belum banyak dilakukan. Tetapi di Amerika

diketahui bahwa penularan tujuh strain SMV (G1-G7) bervariasi antara 15,6% pada G5 hingga 24,9% pada G4 (Bower and Goodman, 1991). (Tabel 2).

Jenis dan Varietas Tanaman

PMoV dan PStV ditularkan melalui biji kacang tanah, tetapi tidak melalui biji kedelai dan kacang hijau, meskipun tanaman tersebut merupakan inang alternatif dan dapat terinfeksi PMoV dan PStV. Di Ghana, CMMV dilaporkan ditularkan lewat benih kacang tunggak dengan persentase penularan yang tinggi (Brunt and Kenten, 1973) dan di Thailand ditularkan melalui biji kedelai dengan persentase penularan sangat rendah (Iwaki *et al.*, 1982). Di Indonesia, dilaporkan bahwa CMMV tidak dapat dideteksi di dalam biji kedelai dengan uji ELISA (Horn *et al.*, 1991). BGMV ditularkan melalui biji kacang hijau, tetapi tidak ditularkan lewat biji kedelai dan kacang hitam (Saleh *et al.*, 1986b). Menurut Roechan (1992), persentase penularan SMV lewat biji kedelai bervariasi menurut varietas: varietas Orba 35–60%, Galunggung 16–25% dan Ringgit 72–75%. Penularan PStV pada kacang tanah varietas Gajah 0,25–0,37%, sedangkan pada varietas Kelinci 0,48–1,40% (Saleh and Horn, 1989).

Umur tanaman

Persentase penularan PStV lewat biji kacang tanah dan BGMV pada biji kacang hijau berkisar antara 0,45–3,60%, dan 0,70–1,80%, tergantung varietas tanaman dan umur tanaman pada saat terinfeksi virus (Saleh and Horn, 1989; Saleh *et al.*, 1986b). Secara umum infeksi virus pada awal pertumbuhan atau tanaman muda akan menghasilkan persentase penularan virus lewat biji yang lebih besar dibanding infeksi pada tanaman tua (saat berbunga atau pengisian/pema-

Tabel 2. Penularan strain SMV lewat biji kedelai.

Strain virus	Penularan lewat biji (%)
SMV-G1	20,6
SMV-G2	23,0
SMV-G3	24,5
SMV-G4	24,9
SMV-G5	15,6
SMV-G6	22,6
SMV-G7	20,1

Sumber: Bower and Goodman, 1991.

sakan biji). Hal ini dapat diterangkan bahwa infeksi awal akan lebih memungkinkan virus untuk mengadakan multiplikasi dan tersebar ke bagian-bagian bunga/biji, jauh sebelum terjadi pembuahan dan terbentuk *zygote*.

Lingkungan

Suhu selama pertumbuhan tanaman terutama pada saat pembungaan dan pembuahan dilaporkan banyak berpengaruh terhadap persentase penularan virus lewat biji. Suhu selama masa berbunga atau awal pembentukan polong sangat berpengaruh terhadap terjadinya belang pada biji kedelai dari tanaman yang terinfeksi SMV. Tanaman yang dipelihara pada suhu 20°C pada periode tersebut akan menghasilkan biji belang yang lebih tinggi dibanding tanaman yang dipelihara pada suhu 30 °C. Tetapi suhu tidak atau sedikit berpengaruh terhadap persentase penularan virus SMV (Ross, 1970).

SERTIFIKASI KESEHATAN BENIH TERHADAP INFEKSI VIRUS

Sejauh ini sertifikasi benih kacang-kacangan masih dititikberatkan pada aspek kemurnian benih, daya berkecambah, dan kebersihan benih - belum secara penuh mensyaratkan kesehatan benih sebagai salah satu kriteria (Ditjentan, 1985). Meskipun pengujian kesehatan benih terutama terhadap patogen jamur dan bakteri sudah dirintis dan lazim dilakukan oleh Balai Pengawasan dan Sertifikasi Benih (BPSB) dalam proses pengujian laboratorium, namun pengujian kesehatan benih untuk patogen tular benih yang disebabkan oleh virus belum banyak dilakukan. Hal ini disebabkan karena untuk mendeteksi virus di dalam biji secara akurat dan cepat diperlukan teknik, keterampilan dan bahan/peralatan yang relatif rumit dan mahal.

Mengingat pentingnya penularan patogen (termasuk virus) lewat biji, maka perlu dipertimbangkan untuk memasukkan uji kesehatan benih sebagai bagian dari proses sertifikasi benih secara bertahap. Kesiapan peralatan laboratorium dan ketrampilan petugas BPSB untuk secara rutin menguji kesehatan benih terhadap infeksi virus di tiap daerah masih perlu ditingkatkan (Saleh, 1996).

Untuk menghasilkan benih bebas virus dalam skala komersial sangat sulit dan mahal. Oleh karena itu perlu ditentukan batas toleransi yang

merupakan kompromi antara kemungkinan risiko kerugian dan biaya menghasilkan benih tersebut. Di Indonesia, penelitian tentang batas toleransi penularan virus lewat benih belum dilakukan. Berdasar batas toleransi penularan virus lewat benih pada tanaman hortikultura, Suseno (1987) mengusulkan dalam uji kesehatan benih di laboratorium, batas maksimum penularan SMV dan SSV lewat benih kedelai adalah 0,30%, 1% dan 2% masing-masing untuk benih dasar, benih pokok, dan benih sebar. Untuk benih penjenis, karena diproduksi dalam jumlah terbatas dan masih dalam pengawasan pemulia dari institusi/ lembaga yang melepas varietas tersebut, serta merupakan sumber utama produksi benih kelas di bawahnya, disarankan untuk bebas virus (0%).

Selain uji laboratorium, Suseno (1987) juga mengusulkan sertifikasi kesehatan benih atas dasar inspeksi pertanaman di lapang. Apabila tanaman terinfeksi kurang dari 10%, biji yang dihasilkan dapat diterima dan apabila lebih dari 30%, biji yang dihasilkan ditolak sebagai benih. Apabila infeksi antara 10–30%, biji dapat ditolak atau diterima dengan persyaratan tertentu. Inspeksi lapang disarankan secara kontinyu 3–5 kali sejak awal penanaman hingga tanaman berbunga.

Sebagai perbandingan, dapat dikemukakan perbenihan selada di California. Biji selada (*Let-tuce*) dihasilkan dari pertanaman benih yang diproduksi di dalam rumah kaca bebas vektor *aphid* dan tanaman yang terinfeksi dicabut. Benih dihasilkan dari tanaman yang terseleksi sehat dan ditanam di daerah yang terisolasi. Uji kesehatan benih dilakukan dengan uji ditumbuhkan atau uji infektivitas. Hanya kelompok biji yang terbukti sehat (tidak terinfeksi virus) dari 30.000 contoh biji yang diuji dinyatakan lulus. Untuk virus lain, program sertifikasi benih biasanya hanya didasarkan pada inspeksi pertanaman di lapang. Pertanaman yang menghasilkan FS harus bebas dari tanaman yang terinfeksi virus mosaik. Untuk *registered seeds* ditolerir 0,5% tanaman terinfeksi virus mosaik dan 1% untuk tanaman penghasil benih ES (Bos, 1978).

DETEKSI VIRUS DALAM BIJI KACANG-KACANGAN

Deteksi virus di dalam biji kacang-kacangan dapat dilakukan dengan berbagai cara mulai yang sederhana hingga yang memerlukan peralatan

yang canggih antara lain: pengamatan langsung secara visual, uji ditumbuhkan, uji infektivitas dan uji serologi (Copeland, 1976).

Pengamatan Secara Visual

Beberapa tanaman yang terinfeksi virus ada yang menghasilkan biji dengan warna kulit biji yang berbeda dibanding biji dari tanaman sehat, namun pada sebagian besar virus lain biji yang dihasilkan dari tanaman sakit tidak berbeda dengan biji tanaman sehat. Sebagian biji tanaman kedelai yang terinfeksi SMV atau SSV, mempunyai kulit biji yang berwarna belang coklat dengan berbagai pola konsentris (melingkar) atau tidak teratur, tetapi pada tanaman kacang hijau, warna kulit biji kacang hijau yang terinfeksi BGMV tidak dapat dibedakan dengan biji kacang hijau sehat.

Hasil penelitian lebih lanjut menunjukkan bahwa tidak semua biji kedelai dengan kulit biji belang terinfeksi virus, dan sebaliknya tidak semua biji dengan kulit biji mulus (yang dihasilkan dari tanaman sakit) bebas infeksi virus. Persentase penularan SSV dari biji belang pada umumnya lebih besar dibanding biji mulus (tanpa belang) (Roehan, 1992). Kulit biji belang lebih berperan sebagai petunjuk bahwa biji tersebut dihasilkan dari tanaman terinfeksi virus, meskipun terdapat indikasi tanaman yang mengalami stres kekeringan pada saat pengisian biji juga dapat menghasilkan biji dengan kulit biji belang.

Selain warna kulit biji, pengamatan secara visual terhadap perbedaan karakter fisik biji (bentuk, ukuran, berat) tidak dapat digunakan untuk mendeteksi infeksi virus di dalam biji kacang-kacangan.

Uji Ditumbuhkan (*Growing-on test*)

Pada dasarnya cara ini dilakukan dengan menumbuhkan biji yang diuji pada media tumbuh tertentu. Media agar dan kertas (*blotter methods*) dan inkubasi pada *seed germinator* efektif digunakan untuk mendeteksi patogen jamur dan bakteri dalam biji. Pada patogen virus, uji ditumbuhkan pada umumnya dilakukan dengan menumbuhkan biji pada media tumbuh yang steril dan dilakukan di dalam rumah kaca yang kedap serangga (*insect-proof*) untuk menghindari kontaminasi serangga vektor yang membawa virus. Infeksi virus dalam embrio biji akan menghasilkan kecambah yang terinfeksi yang ditunjukkan

dengan adanya gejala (*symptoms*) infeksi virus. Cara ini merupakan cara yang paling sederhana untuk mendeteksi infeksi virus dalam biji.

Kelemahan metode ini antara lain memerlukan ruangan (rumah kaca) yang cukup luas dan waktu yang lama. Selain itu hal yang sangat krusial adalah bahwa ekspresi gejala infeksi virus banyak dipengaruhi oleh kondisi lingkungan tumbuh. Pada kondisi rumah kaca yang gelap (kurang sinar) atau suhu terlalu tinggi (panas) sering gejala infeksi virus tidak muncul, meskipun kecambah/tanaman terinfeksi virus (*symptomless*). Infeksi virus juga sering dikacaukan dengan gejala penyakit fisiologis karena kekurangan hara tertentu.

Uji Infektivitas (*Infectivity Test*)

Uji ini dilakukan dengan menginokulasikan ekstrak biji/bagian biji dalam larutan buffer ke daun tanaman indikator tertentu (yang sudah diketahui akan memberikan reaksi berupa gejala luka nekrotik (*necrotic lesion*) terhadap infeksi virus yang diuji. Beberapa tanaman indikator yang sering digunakan untuk mendeteksi infeksi virus antara lain: *Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa*, *Phaseolus vulgaris* Top crop, *Vigna sinensis*, *V. unguiculata*, *Nicotiana tabacum* dan *N. glutinosa*. Untuk mendapatkan hasil yang optimal perlu digunakan jenis tanaman indikator yang tepat dan seperti halnya uji growing-on test kondisi rumah kaca harus mendukung munculnya gejala pada tanaman indikator (tidak terlalu gelap atau panas).

Uji Serologi

Teknik serologi ini didasarkan atas reaksi antara virus (antigen) dengan antibodi spesifiknya. Cara ini banyak digunakan untuk mendeteksi infeksi virus di dalam biji karena pada umumnya memberi hasil yang cepat, peka, reaksinya spesifik dan dapat distandarisasikan serta dapat mendeteksi contoh biji dalam jumlah yang besar. Beberapa teknik serologi yang dikembangkan untuk mendeteksi virus antara lain: uji presipitasi (*precipitation test*), uji aglutinasi (*agglutination test*), IEM (*immunosorbent electron microscopy*) dan ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*), RISA (*radio immunosorbent assay*), *dot-blot immuno assay*, dan *nucleic acid hybridization* (Lange, 1985).

Pada uji presipitasi, reaksi positif antara ekstrak biji yang diuji dengan antisernya ditandai dengan adanya pengendapan (presipitasi) yang dapat diamati dengan kaca pembesar atau bantuan mikroskop cahaya. Pengembangan dari teknik presipitasi adalah uji aglutinasi dimana antibodi virus telah diikat dengan butiran lateks, sehingga reaksi positif antara virus dengan antibodinya ditandai dengan adanya penggumpalan yang dapat diamati secara visual. IEM merupakan penggabungan antara teknik serologi dengan pengamatan dengan mikroskop elektron. Pada cara ini reaksi positif antara patogen virus dengan antibodi spesifiknya ditandai dengan adanya gambaran yang lebih gelap dari partikel virus (Derrick, 1973). Pada perkembangan selanjutnya untuk memperjelas reaksi positif tersebut antibodi virus sering diikat dengan butir emas.

Pada teknik ELISA, antibodi dikonjugasikan dengan enzim tertentu dan reaksi positif antara virus dengan antibodi spesifiknya ditandai dengan reaksi enzimatik antara enzim yang dikonjugasikan pada antibodi dengan substrat enzim yang umumnya ditandai dengan perubahan warna substrat. Beberapa enzim dan substrat yang digunakan adalah: Alkalin fosfatase dengan substrat p-nitrophenil fosfat (Clark dan Adams, 1977), peroksidase dengan substrat hidrogen peroksida, dan Penisillinase dengan substrat-penisilin (Sudharsana dan Reddy, 1989). Pada RISA, antibodi dikonjugasikan dengan zat radioaktif sehingga dilaporkan lebih sensitif di dalam mendeteksi virus di dalam biji dibandingkan ELISA, namun diperlukan peralatan dan tingkat kehati-hatian yang lebih tinggi dalam menangani zat radioaktif apabila digunakan untuk pengujian kesehatan benih secara rutin (Bryant *et al.*, 1983). *Dot-blot immunoassay* atau Dot-ELISA pada dasarnya ELISA dengan menggunakan kertas nitrocellulose untuk mengikat protein, sehingga lebih sederhana dan tidak memerlukan peralatan yang khusus (spektrofotometer) karena hasilnya dapat dibaca dari perubahan warna spot pada kertas nitrocellulose tersebut (Towbin dan Gordon, 1984).

Pemanfaatan teknik serologi sangat membantu dalam mendeteksi virus di dalam biji secara akurat dalam waktu yang cepat dan dalam jumlah yang besar, sehingga sangat bermanfaat untuk sertifikasi kesehatan benih secara rutin. Permasalahan yang sering dihadapi adalah adanya keter-

batasan ketersediaan bahan-bahan utama yang diperlukan untuk uji serologi yaitu antibodi (antiserum) virus, enzim dan substratnya yang masih harus diperoleh/dibeli dari luar negeri dengan harga yang mahal. Produksi antiserum virus kacang-kacangan oleh Lembaga Penelitian dan Perguruan Tinggi di dalam negeri yang mempunyai fasilitas dan kemampuan memurnikan dan menghasilkan antiserum akan sangat membantu program sertifikasi kesehatan benih.

UPAYA MEMPRODUKSI KACANG-KACANGAN YANG SEHAT

Dalam biji sakit virus, terdapat di dalam jaringan kulit biji, dan embrio (kotiledon dan sumbu embrio). Penularan virus ke kecambah tanaman berasal dari infeksi virus pada embrio. Di dalam embrio, virus akan tetap "hidup" selama biji itu sendiri masih hidup. Se jauh tidak ada perlakuan benih secara fisik maupun kimia yang dapat mematikan atau menginaktifkan virus dalam embrio biji tanpa merusak viabilitas biji tersebut. Oleh karena itu memproduksi benih yang relatif bebas virus menjadi sangat penting.

Di Indonesia, produksi benih penjenis (*breeder seed* = BS) merupakan tanggungjawab institusi/ lembaga yang melepas dengan pengawasan penuh dari pemulia varietas yang bersangkutan. Dari benih penjenis tersebut, akan diperbanyak dan dikembangkan menjadi benih-benih kelas di bawahnya yaitu benih dasar (*foundation seed* = FS), benih pokok (*stock seed* = SS) dan benih sebar (*extension seed* = ES) oleh Balai-balai benih pemerintah, BUMN (Sang Hyang Seri, PT Pertani) ataupun perusahaan dan penangkar benih swasta. Untuk menghasilkan benih kacang-kacangan yang relatif sehat dan bebas infeksi virus, maka selain persyaratan agronomis, juga perlu dipertimbangkan persyaratan lain yang berkaitan dengan bioekologi patogen tular biji (Saleh, 1998). Beberapa hal berikut perlu dipertimbangkan: menghindari sumber infeksi awal, mencegah masuk dan menyebarnya virus, dan menanam varietas tahan atau tidak menularkan virus lewat biji.

Menghindari Sumber Infeksi Awal

Menghindari sumber infeksi awal dapat ditempuh dengan penyediaan benih sehat, menghilangkan tanaman terinfeksi dan menghindari sumber infeksi lain di sekitar pertanaman benih.

Benih sehat

SMV, SSV, PStV, PMoV, MMV, BYMV dan BGMV diketahui dapat ditularkan melalui benih kedelai, kacang tanah, dan kacang hijau. Benih terinfeksi terbukti dapat menjadi sumber utama penularan virus di lapang. Oleh karena itu benih yang digunakan untuk pertanaman benih harus diketahui secara pasti identitas ataupun kesehatannya. Meskipun biji kedelai belang bukan merupakan petunjuk adanya infeksi SMV atau SSV, namun untuk pencegahan disarankan untuk tidak menggunakan benih belang tersebut. Baliadi dan Saleh (1989) melaporkan bahwa pertanaman yang menggunakan benih kacang tanah dari tanaman sehat secara nyata akan mengurangi persentase tanaman yang terinfeksi PStV dan laju infeksi virus dibanding pertanaman yang benihnya berasal dari tanaman sakit.

Menghilangkan tanaman terinfeksi

Di lapangan, sumber infeksi atau sumber inokulum virus selain berasal dari benih yang terinfeksi, juga dapat berupa tanaman budidaya sejenis, lain jenis maupun tumbuhan liar. PStV yang inang utamanya adalah tanaman kacang tanah, dapat menginfeksi kedelai, kacang panjang, atau kacang buncis. Oleh karena itu untuk memutus daur dan mengurangi sumber inokulum di lapang, pertanaman kacang-kacangan untuk benih harus dirotasi dengan tanaman sereal/umbi-umbian yang bukan merupakan inang virus kacang-kacangan.

Virus kacang-kacangan juga diketahui secara alami dapat menginfeksi gulma yang sering tumbuh di dalam atau di sekitar pertanaman. Misalnya PStV dapat menginfeksi gulma: *Desmodium spp.*, *Cassia oxidentalis*, dan *Aeschynomene indica* (Baliadi *et al.*, 1988; 1990). PMoV dapat menginfeksi gulma orok-orok, *Casia tora* dan *Boreria hispida* (Triharso, 1975). SMV diketahui dapat menginfeksi gulma *Cassia oxidentalis*, *Sesbania exaltata*, *Phaseolus speciosus* dan *P. latthyroides* (Roehan, 1992).

Pemantauan secara rutin dan pencabutan tanaman sakit terutama pada saat masih muda hingga mendekati masa berbunga dapat meminimalkan kemungkinan penularan virus melalui benih yang dihasilkan pertanaman tersebut. Mencabut tanaman sakit juga dapat berarti mengurangi penyebaran lebih lanjut oleh serangga vektor. Mencabut gulma yang merupakan

inang alternatif virus kacang-kacangan merupakan langkah untuk mengurangi sumber infeksi di lapang. Beberapa gulma dapat bertindak sebagai sumber virus maupun untuk perkembangan vektor virus di lapang.

Mencegah Masuk dan Menyebarnya Virus

Pencegahan masuk dan menyebarnya virus ke pertanaman oleh serangga vektor dapat dilakukan dengan melaksanakan budidaya pada daerah/lokasi dan waktu yang relatif bebas virus/vektor, dan mengendalikan vektor secara langsung atau dengan cara mempengaruhi perilaku vektor di lapang.

Daerah/lokasi dan waktu yang relatif bebas virus/vektor

Mengusahakan pertanaman benih kacang-kacangan di lokasi dan waktu yang relatif bebas vektor dan virus sangat dianjurkan, namun sulit dilaksanakan karena virus kacang-kacangan (misal SMV, PMoV, dan PStV) mempunyai kisaran tanaman inang yang luas dan juga dapat ditularkan oleh banyak jenis kutu daun (aphid) termasuk aphid yang berkoloni pada tanaman sereal, rumput atau pohon (Abney *et al.*, 1976; Triharso, 1975; Saleh dan Horn, 1990). Lahan di tengah areal persawahan atau di daerah perkebunan muda merupakan pendekatan untuk mendapat areal yang terisolasi.

Di Indonesia, produksi benih BS, FS dan ES kacang-kacangan pada umumnya dilakukan di kebun percobaan atau kebun Balai Benih Induk (BBI), Balai Benih Utama (BBU) dan Balai Benih Pembantu (BBP). Berdasarkan pengamatan Baker (1990) bahwa karena sistem penanaman kacang-kacangan yang terus-menerus di kebun percobaan dan kebun Balai Benih, intensitas serangan virus kacang-kacangan di kebun tersebut pada umumnya lebih tinggi dibandingkan di lahan petani di mana mereka melakukan pergiliran tanaman dengan tanaman non-kacang-kacangan. Untuk mengurangi dan memutus daur hidup virus dan vektor, maka pada kebun-kebun tersebut perlu dilakukan rotasi tanam secara ketat serta eradikasi tanaman dan gulma terinfeksi virus di sekitar kebun.

Di Indonesia aphid berkembang biak secara partenogenesis dan populasi aphid pada umumnya mulai berkembang pada akhir musim hujan dan

mencapai puncak pada musim kemarau. Pengalaman menunjukkan bahwa pertanaman kacang-kacangan pada MK-2 akan terserang virus yang lebih tinggi dibanding pertanaman pada musim hujan atau MK-1. Hal ini disebabkan karena pada MK-2 telah terjadi penumpukan sumber inokulum virus dan populasi vektor tinggi. Oleh karena itu pertanaman benih sebaiknya dilakukan pada akhir musim hujan atau awal musim kemarau.

Mengendalikan vektor

SMV, SSV, PMoV, PStV, BYMV, MMV dan BGMV termasuk dalam kelompok virus non-persisten. Pengendalian vektor secara kimiawi dengan insektisida sering tidak memberikan hasil yang memuaskan dalam menekan intensitas serangan penyakit virus non-persisten. Hal ini diduga karena insektisida tersebut tidak dapat mematikan aphid dalam waktu yang cepat sebelum vektor menularkan virus ke tanaman lain (Broadbent, 1969; Lobenstein dan Raccach, 1980). Baliadi dan Saleh (1989) melaporkan bahwa penyemprotan insektisida tidak secara nyata berpengaruh terhadap penekanan persentase infeksi PStV pada tanaman kacang tanah. Tetapi beberapa penelitian lain menunjukkan bahwa penyemprotan insektisida cypermethrin, deltamethrin, permethrin, fanfalerate, disulfoton dan acephate dapat menekan kolonisasi aphid dan mengurangi atau memperlambat penyebaran virus non-persisten (Asjes, 1985; Atiri *et al.*, 1987; Pirone *et al.*, 1988).

Penyemprotan minyak mineral (*mineral oil*) secara kontinyu dengan interval lima hari dilaporkan dapat menghambat proses infeksi dan penyebaran SMV sebesar 27% dibanding perlakuan kontrol yang tidak disemprot (*cit.* Irwin dan Schult, 1981). Namun karena harus disemprotkan beberapa kali dan harganya mahal, penggunaan minyak mineral ataupun emulsi minyak nabati akan sulit diterapkan di Indonesia.

Penggunaan reflektif aluminium (sebagai plastik mulsa) maupun cat berbahan reflektif untuk penyemprotan daun dan plastik putih dilaporkan dapat mengurangi pendaratan serangga aphid bersayap (*alatae*) (Lobenstein *et al.*, 1975). Di RRC, plastik perak dan plastik bening yang digunakan untuk pertanaman benih kacang tanah akan mengurangi infestasi aphid hanya pada awal pertumbuhan, tetapi pengaruh ter-

sebut akan menurun setelah tanaman menutupi plastik tersebut. Meskipun demikian, sampai 8 minggu setelah tanam (MST) penggunaan plastik tersebut mengurangi persentase tanaman terserang PStV dan meningkatkan hasil 30% (Zeyong, 1990). Di Indonesia penggunaan plastik perak telah umum digunakan pada pertanaman hortikultura (cabai dan melon). Hasil penelitian penggunaan mulsa plastik pada tanaman kedelai memberi hasil kurang memuaskan dalam menekan perkembangan penyakit virus SSV. Bahkan di daerah endemis penyakit layu, penggunaan mulsa plastik tersebut meningkatkan intensitas serangan penyakit layu (Saleh, 1997).

Pemanfaatan mulsa jerami sebanyak 75% dan 100% luas permukaan dilaporkan dapat mengurangi jumlah aphid yang tertangkap dan menekan perkembangan SMV (Martosudiro dan Hadiastono, 1994).

Menanam dengan jarak tanam yang rapat dilaporkan dapat mempengaruhi pendaratan aphid ke pertanaman. Beberapa jenis aphid dilaporkan lebih banyak tertangkap pada pertanaman dengan jarak tanam renggang. Sementara jenis lain tidak banyak dipengaruhi jarak tanam (A'Brook, 1964;1968). Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase tanaman kacang tanah yang terinfeksi PStV pada pertanaman dengan populasi tanaman yang padat (jarak tanam 20 x 15 cm) lebih rendah dibanding pertanaman dengan jarak 40 cm x 15 cm (Saleh dan Baliadi, 1989). Tumpangsari kedelai dengan sorgum dapat mengurangi persentase tanaman terserang SMV, namun akan mengurangi hasil kedelai 25–50% (Bottenberg dan Irwin, 1992). Yulianto *et al.* (1993) melaporkan bahwa tumpangsari kedelai dengan cabai tidak mengurangi penyebaran SMV dan SSV. Meskipun aphid lebih menyukai tanaman cabai dibanding tanaman kedelai.

Menanam Varietas Tahan atau Tidak Menularkan Virus Lewat Biji

Menanam varietas kedelai, kacang tanah, atau kacang hijau yang tahan virus merupakan cara yang efektif, murah, dan mudah diterima petani, serta kompatibel dengan cara pengendalian lain dan aman terhadap lingkungan. Kedelai varietas Taichung, Bonus, dan No.1592 dilaporkan tahan terhadap SSV (Roechan *et al.*, 1975). Burhanuddin (1995) melaporkan bahwa AGS 129, AGS 222, AGS 2102, MLG 2526 dan MLG

2742 tahan terhadap SMV. Saleh *et al.* (1986b) melaporkan bahwa BGMV tidak ditularkan melalui benih kacang hijau varietas Artoijo.

KESIMPULAN DAN SARAN

Dari uraian dan pembahasan tersebut dapat ditarik beberapa kesimpulan dan saran tindak lanjutnya antara lain: yaitu:

1. Penularan virus lewat benih kacang-kacangan merupakan salah satu kendala perbenihan yang perlu segera ditangani secara serius.
2. Sertifikasi kesehatan benih (terhadap patogen virus) sebaiknya secara gradual dimasukkan sebagai bagian dari program sertifikasi benih kacang-kacangan.
3. Antiserum virus kacang-kacangan yang penting perlu diproduksi di dalam negeri oleh lembaga penelitian/perguruan tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- A'Brook, J. 1964. The effect of planting date and plant spacing on the incidence of groundnut rosette disease and the vector *Aphis craccivora* Koch. at Mokwa Northern Nigeria. *Annals Appl. Biol.* 54: 199–208.
- A'Brook, J. 1968. The effect of plant spacing on the number of aphids trapped over the groundnut crop. *Annals Appl. Biol.* 61: 289–294.
- Abney, T.S., J.O. Silling, T.I. Richard and D.B. Broesma. 1976. Aphid and other insects as vectors of *Soybean mosaic virus*. *J. Econ. Entomol.* 69(2): 254–256.
- Amrety, A.A., H.M. El Said and D.E. Salem. 1985. Effect of *Soybean mosaic virus* infection on quality of soybean seed. *Agric. Res. Rev.* 63: 155–164.
- Atiri, G., G. Thottapilly and D. Ligan. 1987. Effect of cypermethrin and deltamethrin on the feeding behaviour of *Aphis craccivora* and transmission of Cowpea aphid-borne mosaic virus. *Annals Appl. Biol.* 110: 455–461.
- Asjes, C.J. 1985. Control of field spread of non-persistent viruses in flower-bulb crops by synthetic pyrethroid and pirimicarb insecticides and mineral oil. *Crop Protection* 4(4): 485–493.
- Baker, W. 1990. Viruses of tropical grain legumes in Indonesia: Consequence for the production of foundation seed. Internal Seminar at MARIF. 16 pp.
- Baliadi, Y., N. Saleh dan N. Horn. 1988. Infeksi alami Peanut stripe virus pada leguminosa dan gulma. *Penelitian Palawija* 3(2): 100–104.
- Baliadi, Y. dan N. Saleh. 1989. Pengendalian penyakit Peanut stripe virus (PStV) pada kacang tanah (*Arachis hypogaea*). *Prosiding Kongres Nasional X dan Seminar Ilmiah PFI.* Denpasar 14–16 Nopember 1989.
- Baliadi, Y., N. Saleh dan M. Hadi. 1990. Beberapa jenis gulma sebagai inang alternatif *Peanut stripe virus*. *Prosiding konferensi HIGI X di Malang.* hlm: 320–324.
- Bos, L. 1978. Seed-borne virus. *In* Hewitt W.B. and L. Chiarappa (Ed). *Plant Health and Quarantine in International transport of genetic resources.* CRC Press. pp:39–67.
- Bottenberg, H. and M.E. Irwin. 1992. Using mixed cropping to limit seed mottling induced by *Soybean mosaic virus*. *Plant Disease* 76: 304–306.
- Bowers, G.R. Jr and R.M. Goodman. 1991. Strain specificity of *Soybean mosaic virus* seed transmission in soybean. *Crop Science* 31: 1171–1174.
- BPS. 2002. Statistik Indonesia. Statistical year book 2002. Biro Pusat Statistik. Jakarta. 596 hlm.
- Broadbent. 1969. Disease control through vector control. *In* Viruses, vectors and vegetation. New York. pp: 593–630.
- Brun, A.A. and R.H. Kenten. 1973. Cowpea mild mottle a newly recognized virus infecting cowpea (*Vigna unguiculata*) in Ghana. *Annals Appl. Biol.* 74: 67–74.
- Bryant, G.R., D. Durrant and J.H. Hill 1983. Development of solid radio-immuno assay for detection of Soybean mosaic virus. *Phytopathology* 72: 1117–1181.
- Burhanuddin. 1995. Virus mosaik di Sulawesi Selatan. *Kongres Nasional XIII dan Seminar Ilmiah PFI.* Mataram September 1995.
- Clark, M.F. and A.N. Adams. 1977. Characteristic of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *J. General Virology* 34:457–483.
- Copeland, L.O. 1976. Principles of Seed Science and Technology. Burgess Publishing Com. Minnesota. 369 pp.
- Demski, J.W., D.V.R. Reddy, G. Sowell, and D. Bays. 1984. Peanut stripe virus—a new seed-borne polyvirus from China infecting groundnut (*Arachis hypogaea*). *Annals App. Biol.* 105: 495–501.
- Derrick, K.S. 1973. Quantitative assay for plant viruses using serologically specific electron microscopy. *Virology* 56: 652–653.
- Ditjentan. 1985. Pedoman sertifikasi benih. Direktorat Jenderal Pertanian Tanaman pangan, Direktorat Bina Produksi Tanaman Pangan Jakarta.
- Harnowo, D., dan Y. Baliadi. 1995. Pengaruh tingkat belang terhadap daya berkecambah dan vigor benih

- kedelai. Risalah Seminar Hasil Penelitian Tanaman Pangan. Balitkabi Malang. hlm: 68–77.
- Horn, N.M., N. Saleh and Y. Baliadi. 1991. *Cowpea mild mottle virus* could not be detected by ELISA in soybean and groundnut seeds in Indonesia. Neth. J. Pl. Path. 97: 125–127
- Iwaki, M. and H. Auzay. 1977. Virus diseases of mungbean in Indonesia. Proc The Ist Internat. Mungbean Symp. AVRDC. p: 169–172.
- Iwaki, M., P. Thongmeearkom, M. Prommin, Y. Honda and T. Hibi. 1982. Whitefly transmission and some properties of *Cowpea mild mottle virus* on soybean in Thailand. Plant Disease 66: 365–368.
- Irwin. M.E. and G.A. Schultz. 1981. Soybean mosaic virus. FAO Plant Protection Bulletin 19 (3/4): 41–55.
- Lange, L. 1985. The practical application of new development in test procedures for detection of viruses in seed. Proc. International Conference on New Development in Techniques for Virus Detection. pp: 269–281.
- Lobenstein.G., M. Alper, S. Levy, D. Palevitch and E. Managem. 1975. Protecting peppers from aphid-borne viruses with aluminium foil or plastic mulch. Phytoparasitica 3:43–53.
- Lobenstein, G. and B. Raccach. 1980. Control of non-persistently transmitted aphid-borne viruses. Phytoparasitica 8: 221–235.
- Mandahar, C.L. 1981. Virus transmission through seed and pollen. In K. Maramorosch and K.F. Harris (Ed.) Plant Disease and Vector: Ecology and Epidemiology. Academic Press. pp: 43–49.
- Martosudiro, M. dan T. Hadiastono. 1994. Penggunaan mulsa jerami dalam pengendalian penyakit-penyakit virus penting pada tanaman kedelai. J. Fitopatologi 3 (1): 6–14.
- Muchsin. 1997. Pengaruh waktu inokulasi virus kerdil kedelai terhadap hasil kedelai di KP. Muara. Ris. Kongres Nasional XIII dan Seminar Ilmiah PFI 25–29 September 1995. hlm: 106–108.
- Neergard, P. 1977. Seed Pathology. Vol.I The Mc Millan Press Ltd. London. 839 pp.
- Pacumbaba, R.P. 1990. Seed transmission of *Soybean mosaic virus* using mottled seed from virus-infected soybean plants. Soybean genetic newsletter 17: 144–147.
- Pirone, T.P., B. Raccach, L.V. Madden. 1988. Suppression of aphid colonization by insecticides: effect on incidence of Potyvirus on tobacco. Plant Disease 72: 350–353.
- Rahamma, S. dan A. Hasanuddin. 1989. Inokulasi virus mosaik kedelai pada berbagai umur tanaman kedelai. Pros. Kongres Nasional X dan Seminar Ilmiah PFI 14–16 Nopember 1989. hlm: 115–117.
- Rachmadi, R. Suseno, Y. Baharsyah and N. Saleh. 1987. Location and longevity of soybean stunt virus (SSV) in soybean seed. Symp. Crop Pathogen and nematode. SEAMEO-BIOTROP Bogor.
- Rahayu, M. 1989. Pengaruh serangan *Soybean mosaic virus* (SMV) terhadap hasil dan mutu hasil benih kedelai. Thesis S2. Fakultas Pasca Sarjana Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta, 50 hlm.
- Roechan, M., M. Iwaki, and D.M. Tantera. 1975. Virus disease of legume plants in Indonesia. Soybean stunt virus. Contribution CRIFC Bogor. NO.15. 16 pp.
- Roechan, M., M. Iwaki, N. Saleh and D.M. Tantera. 1978. Virus disease of legume plants in Indonesia. 3. Bean yellow mosaic virus. Contribution CRIFC Bogor. 12 pp.
- Roechan, M., M. Iwaki, N. Saleh, D.M. Tantera and H. Hibino 1978. Virus disease of legume plants in Indonesia. 4. Peanut mottle virus. Contribution CRIFC Bogor. 12 pp.
- Roechan, M., M. Iwaki, and D.M. Tantera. 1979. Soybean yellow mosaic virus. Kongres Nasional IV dan seminar Ilmiah PFI .Bandung 15 hlm.
- Roechan, M. 1992. Virus-virus pada kedelai (*Glycine max* (L) Merr.) di Jawa dan Lampung; Identifikasi, penyebaran dan kemungkinan pengendaliannya. Disertasi Universitas Padjadjaran Bandung. 325 hlm.
- Roos, J.P. 1970. Effect of temperature on mottling of soybean seed caused by *Soybean mosaic virus*. Phytopathology 60: 1798–1800.
- Saleh, N., Triharso dan D.M. Tantera. 1986a. Identifikasi virus bangkas kacang hitam pada kacang hijau di Indonesia. Seminar Hasil Penelitian Tanaman Pangan. Volume 1 Palawija. hlm. 200–206.
- Saleh, N., Triharso dan D.M. Tantera. 1986b. Penularan virus bangkas kacang hitam melalui biji kacang hijau. Seminar Hasil Penelitian Tanaman Pangan. Volume 1 Palawija. hlm: 207–212.
- Saleh, N., Y. Honda, H. Jumanto, S. Takaya and M. Muchsin. 1987. Distribution and seed transmission of *Soybean stunt virus* on soybean seeds. Prosiding Kongres Nasional IX dan seminar ilmiah PFI. November 1987. hlm. 33–38.
- Saleh, N. and N. Horn. 1989. Transmission of *Peanut stripe virus* (PStV) by its vectors and groundnut seeds. Penelitian Palawija 4(2): 118–122.
- Saleh, N., N.M. Horn, D.V.R. Reddy and K.J. Middleton. 1989. Peanut stripe virus in Indonesia. Neth. J. Pl. Path. 95: 123–127.
- Saleh, N., dan Y. Baliadi. 1989a. Deteksi PStV dalam biji kacang tanah menggunakan DAC-ELISA dengan Penicillinase. Pros. Kongres nasional dan seminar

- Ilmiah PFI. Denpasar 14–16 Nopember 1989. hlm. 136–137.
- Saleh, N. dan Y. Baliadi. 1989b. Pengaruh jarak tanam terhadap perkembangan penyakit virus belang dan hasil kacang tanah. Laporan Teknis Balittan Malang 1989.
- Saleh, N., Y. Baliadi, K.J. Middleton and D.V.R. Reddy. 1990. Yield loss assessment of peanut caused by Peanut stripe virus. AARD-ACIAR Peanut Improvement Project review and planning. MARIF 26–28 November 1990. 9 pp.
- Saleh, N. 1996. Seed transmitted viruses of soybean in Indonesia in relation to certification and production of healthy seeds. Consultant Report Palawija Seed Production and Marketing Project. 29 pp.
- Saleh, N. 1997. Pengaruh biji belang dan pengendalian vektor terhadap intensitas serangan Soybean stunt virus dan hasil kedelai. Komponen Teknologi Peningkatan Produksi Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian. Edisi khusus Balitkabi No.9-1997. hlm. 82–89.
- Saleh, N. 1998. Peningkatan mutu benih kedelai asal sistem JABALSIM dari aspek kesehatan benih. Prosiding lokakarya sistem produksi dan peningkatan mutu benih kedelai di Jawa Timur. JICA-BPTP Karangploso-Dinas Pertanian Tanaman Pangan dan Hortikultura tingkat I Jawa Timur. hlm. 61–79.
- Sudarshana, M.R. and D.V.R. Reddy. 1989. Penicillinase-based enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. submitted for J. Virological Methods. 9 pp.
- Sumarno dan Widiati. 1985. Produksi dan teknologi benih kedelai *Dalam* Sadikin, S., M. Ismunadji, Mahyudin S., S.O. Manurung dan Yuswardi (Ed.) Kedelai. Puslitbangtan. Bogor. hlm: 407–428.
- Sunartiningsih, W. Wakman, A. Hasanuddin dan S. Saenong. 1991. Penurunan hasil kedelai akibat penyakit mosaik yang ditularkan *Aphis glycines*. Agrikam 6(3): 89–94.
- Suseno, R. 1987. Virus terbawa benih tanaman pangan serta hubungannya dengan sertifikasi dan pengawasan mutu benih. Lokakarya Patogen Terbawa Benih Dalam Rangka Pengembangan dan Pengawasan Mutu dan Sertifikasi Benih. 8–9 Desember 1987. Bogor. 20 hlm.
- Towbin, H. and J. Gordon. 1984. Immunoblotting and dot immunobinding-current status and outlook. J. Immunological Methods 72: 313–340.
- Triharso. 1975. Penelitian penyakit-penyakit virus kacang tanah. Disertasi Doktor. Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. 157 hlm
- Wahyuni, S., U.S. Nugraha dan D. Kuswardana. 1991. Pengaruh diskolorisasi pada kulit benih terhadap mutu benih kedelai. Reflektor 5(1-2): 22–24.
- Yulianto, U.S. Nugroho dan S. Kartaatmadja. 1993. Pengendalian vector virus (*Aphis* sp.) melalui penanaman inang lain pada pertanaman kedelai. Kongres Nasional XII dan Seminar Ilmiah PFI. Yogyakarta. hlm: 365–370.
- Zeyong, X. 1990. Peanut stripe virus research in China (*unpublished*) 15 pp.