

## Deteksi dan Identifikasi *Begomovirus* pada Tembakau yang Ditanam Tumpang Sari dengan Tanaman Cabai

Mimi Sutrawati<sup>1\*</sup>, Nadrawati<sup>1</sup>, Djamilah<sup>1</sup>, dan Ewa Aulia<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Perlindungan Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Bengkulu

<sup>2</sup>Program Studi Magister Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Bengkulu

Jl. WR Supratman, Kandang Limun, Muara Bangkahulu, Bengkulu 38371A

\*Alamat korespondensi: mimi\_sutrawati@unib.ac.id

---

### INFO ARTIKEL

Diterima: 28-06-2023

Direvisi: 23-08-2023

Dipublikasi: 31-12-2023

---

### ABSTRACT/ABSTRAK

#### Detection and identification of *Begomovirus* on tobacco intercrop with chili plant

#### Keywords:

Nucleotide homology,  
PCR, Sequencing,  
Universal primer,  
Yellow mosaic

*Begomovirus* species have been reported in various regions of Indonesia. Symptoms of yellowing mosaic disease due to *Begomovirus* infection have been reported in various cultivated plants and weeds in Bengkulu, including chilies, cucumbers, pumpkins, melons, and pawpaws. Tobacco plants are widely planted as edge crops in chili cultivation fields in Kepahiang, Bengkulu. Based on observations in chili cultivation areas in the fields, tobacco with leaf curl and yellow mosaic symptoms was found. This study aimed to detect and identify the *Begomovirus* that causes tobacco leaf curl and yellow mosaic disease in Bengkulu. Virus detection and identification were carried out by the polymerase chain reaction (PCR) method using universal primers encoding transcriptional activator protein (TrAp) and replication-associated protein (Rep) with a target fragment of  $\pm 900$  bp. PCR amplification results showed a target band of  $\pm 900$  bp in the tobacco leaf sample. The PCR products were then sent to the First Base, Malaysia to be sequenced. Sequential analysis showed that the *Begomovirus* that infects tobacco showed 99% homology with the isolate *Pepper Yellow Leaf Curl Indonesia Virus* (PYLCIV) on chilies in Bali (accession number LC381263). The results of this identification are the first reports of *Begomovirus* infection on tobacco plants in Bengkulu.

#### Kata Kunci:

Homologi nukleotida,  
Primer universal,  
Mosaik kuning, PCR,  
Sikuensing

Beragam spesies *Begomovirus* telah dilaporkan di berbagai daerah di Indonesia. Gejala penyakit mosaik menguning akibat infeksi *Begomovirus* telah dilaporkan pada berbagai tanaman budidaya di Bengkulu antara lain cabai, mentimun, labu, melon, pepaya, dan gulma. Tanaman tembakau banyak ditanam sebagai tanaman pinggir di lahan budidaya cabai. Berdasarkan pengamatan di lahan budidaya cabai di Kabupaten Kepahiang, Bengkulu ditemukan tembakau bergejala keriting dan mosaik kuning. Tujuan penelitian ini adalah mendeteksi dan mengidentifikasi *Begomovirus* penyebab penyakit mosaik menguning tembakau di Bengkulu. Deteksi dan identifikasi virus dilakukan dengan menggunakan metode *polymerase chain reaction* (PCR) menggunakan primer universal yang mengkode transcriptional activator protein (TrAp) dan replication-associated protein (Rep) dengan target fragmen  $\pm 900$  pb. Hasil amplifikasi PCR menunjukkan adanya pita target  $\pm 900$  pb pada sampel daun tembakau. Produk PCR kemudian dikirim ke First Base, Malaysia untuk dilakukan sikuensing. *Begomovirus* yang menginfeksi tembakau menunjukkan homologi 99% dengan isolat *Pepper Yellow Leaf Curl Indonesia Virus* (PYLCIV) pada cabai di Bali (nomor akses LC381263). Hasil identifikasi

ini merupakan laporan pertama infeksi PYLCV pada tanaman tembakau di Bengkulu.

## PENDAHULUAN

Geminivirus merupakan kelompok virus dengan morfologi yang unik, terdiri atas dua partikel kembar isometrik berupa genom utas tunggal sirkular. Kelompok virus ini dibedakan menjadi empat genus yaitu *Mastrevirus*, *Curtovirus*, *Begomovirus*, dan *Topocuvirus*, berdasarkan hubungannya dengan serangga vektor, kisaran inang, dan organisasi genomnya (Van Rogenmortel, 2000). *Begomovirus* ditularkan oleh kutu kebul *Bemisia tabaci* Genn. (Hemiptera:Aleyrodidae) dan menginfeksi banyak jenis tanaman dikotil (Kumar *et al.*, 2023).

*Begomovirus* terdiri dari banyak spesies dan dilaporkan berasosiasi dengan penyakit kuning keriting sistemik dan kerdil pada banyak jenis tanaman. *Begomovirus* pertama kali dilaporkan sebagai penyebab kuning keriting pada cabai di beberapa wilayah di Jawa, tembakau di Jember (Hidayat *et al.*, 2008), *Mungbean yellow mosaic India virus* (MYMIV) pada kedelai di Jawa dan Sumatera (Sutrawati *et al.*, 2020). Beberapa laporan infeksi *Begomovirus* di Bengkulu antara lain adanya temuan penyakit baru yaitu mosaik kuning pepaya (Sutrawati *et al.*, 2021). Selain itu dilaporkan pula *Begomovirus* pada cabai yaitu *Pepper yellow leafcurl Indonesia Virus* (PYLCIV) dan *Tomato Leaf Curl New Delhi Virus* (TLCNDV) pada mentimun, serta *Ageratum Yellow Vein Virus* (AYVV) pada gulma (Aulia dkk., 2022; Sipriyadi dkk., 2022; Sutrawati *et al.*, 2022; Marpaung *et al.*, 2023).

Infeksi *Begomovirus* pada tembakau telah dilaporkan di berbagai daerah. Namun, belum ada informasi pada tembakau di Bengkulu. Tahun 1984, penyakit keriting daun tembakau disebabkan oleh *Tobacco Leaf Curl Virus* (TLCV) menimbulkan kerusakan yang parah dengan insidensi penyakit mencapai 30% (Poerbokoesoemo, 1984 dalam Trisusilowati *et al.*, 1990). Penyakit oleh infeksi *Tobacco Leaf Curl Virus* anggota *Begomovirus* juga banyak dilaporkan di berbagai negara seperti Thailand dan Banglades (Samretwanich *et al.*, 2000; Maruthi *et al.*, 2005). Hidayat *et al.* (2008) melaporkan infeksi *Tobacco leaf curl virus* (TLCV) di Jawa Timur. Penyakit ini tidak hanya mengurangi hasil panen daun tembakau, namun juga

menurunkan kualitas tembakau terutama tembakau untuk produksi cerutu.

Petani cabai di sentra budidaya cabai di Kabupaten Kepahiang, Bengkulu menanam tembakau sebagai tanaman pinggir di lahan budidaya cabai. Tembakau tersebut biasanya digunakan sebagai bahan baku pembuatan biopestisida untuk repelen atau penolak serangga. Pada pengamatan di lapangan, hampir semua tanaman tembakau yang ditanam secara tumpang sari dengan cabai di Kabupaten Kepahiang, Bengkulu menunjukkan gejala kuning keriting dan kerdil dan mirip dengan gejala khas infeksi *Begomovirus*. Penelitian ini perlu dilakukan untuk mengkonfirmasi apakah spesies *Begomovirus* yang menginfeksi tembakau sama dengan virus yang umumnya menginfeksi tanaman cabai. Berdasarkan gejala pada tanaman tembakau tersebut diduga disebabkan oleh *Begomovirus*. Belum diketahui spesies *Begomovirus* yang menginfeksi tembakau di Bengkulu, karena belum pernah dilaporkan sebelumnya. Jika spesies *Begomovirus* yang menginfeksi tembakau merupakan spesies yang sama dengan *Begomovirus* pada cabai maka tanaman tembakau yang terinfeksi dapat menjadi sumber inokulum di lahan budidaya cabai. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi dan mengidentifikasi spesies *Begomovirus* yang menginfeksi tembakau di sentra budidaya cabai di Kab. Kepahiang, Bengkulu.

## BAHAN DAN METODE

### Pengambilan Sampel

Sampel daun tembakau diambil dari lahan budidaya cabai di Kabupaten Kepahiang, Bengkulu dengan ketinggian 800 mdpl. Kemudian sampel daun dibawa ke Laboratorium Biologi Molekuler, Jurusan Perlindungan Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Bengkulu.

### Deteksi *Begomovirus* dengan Metode Polymerase Chain Reaction (PCR)

#### Ekstraksi DNA Total

Ekstraksi DNA total tanaman dilakukan dengan menggunakan *Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide* (CTAB) sesuai Doyle & Doyle (1987). Sampel daun sebanyak 0,1 g digerus menggunakan mortal dan pistil dengan menambahkan nitrogen cair. Serbuk daun kemudian dipindahkan ke tabung

ukuran 1,5 ml, ditambahkan CTAB bufer 500 µl + 5 µl β-ME dan dibolak-balik hingga homogen, selanjutnya diinkubasi pada suhu 65°C selama 60 menit (tabung dibolak-balik setiap 10 menit), dan didiamkan selama ± 2 menit pada suhu ruang. Setelah itu, diberikan *chloroform : isoamyl alcohol* sebanyak 500 µl dengan perbandingan (24 : 1) dan dihomogenkan menggunakan vorteks selama 5 menit. Kemudian tabung tersebut disentrifugasi pada kecepatan 12.000 rpm selama 15 menit untuk pemisahan cairan berupa endapan dan supernatan. Supernatan diambil dengan menggunakan *micropipette* dan dipindahkan ke tabung 1,5 ml yang baru, selanjutnya ditambahkan sodium asetat (CH<sub>3</sub>COOK) sebanyak 1/10 dari volume supernatan dan dibolak-balik agar tercampur. Kemudian ditambahkan isopropanol sebanyak 2/3 dari volume supernatan dan diinkubasi semalam pada suhu -20°C. Setelah waktu inkubasi selesai, tabung diinkubasi lagi pada suhu ruang selama 1 menit dan selanjutnya disentrifugasi pada kecepatan 12.000 rpm selama 10 menit. Setelah itu, supernatan dibuang dengan hati-hati sehingga terlihat pelet DNA yang menempel pada dinding tabung. Setelah itu, 500 µl etanol 70% ditambahkan pada tabung dan disentrifugasi pada kecepatan 8.000 rpm selama 5 menit. Setelah selesai, etanol dibuang dan tabung yang berisi pelet DNA dikeringanginkan. Setelah kering, ditambahkan lagi *Nuklease-free Water* sebanyak 50 µl.

### Amplifikasi DNA

Amplifikasi DNA dengan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) menggunakan primer universal *Begomovirus* SPG1 dan SPG2 yang mengamplifikasi bagian gen *transcriptional activator protein* (TrAp) dan *replication-associated protein* (Rep) yang berukuran ± 912 bp. Komposisi reagen dalam reaksi amplifikasi ialah 1 µl DNA-template, 1 µl primer SPG 1, 1 µl primer SPG 2, 9,5 µl *Nuklease-free Water*, dan 12,5 µl Green *Taq* DNA Polymerase. Program amplifikasi dilakukan sebanyak 35 siklus dengan tahapan sebagai berikut: predenaturasi pada suhu 94°C selama 5 menit, denaturasi pada suhu 94°C selama 1 menit, *annealing* pada suhu 59°C selama 1 menit, sintesis DNA pada suhu 72°C selama 1 menit, pemanjangan akhir pada suhu 72°C selama 10 menit dan suhu 4°C untuk suhu penyimpanan (Li *et al.*, 2004).

### Visualisasi Produk PCR

Gel agarose 1% dibuat dengan cara agaros sebanyak 1 g dimasukkan ke dalam tabung

Erlenmeyer 100 ml, lalu ditambahkan 100 ml bufer Tris-Acetate EDTA (TAE) 1x. Kemudian campuran dipanaskan pada pemanas (*hot plate*) sampai mendidih. Larutan agar didinginkan, lalu larutan gel agarose dituang ke dalam cetakan. Gel didiamkan sampai mengeras. Setelah mengeras, gel diambil dan diletakkan ke dalam bak elektroforesis yang berisi buffer TAE 1x. Sebanyak 5 µl DNA hasil PCR dimasukkan ke dalam sumur gel elektroforesis dan pada sumuran gel elektroforesis yang berada di posisi sebelah kiri dimasukkan 4 µl marker dengan komposisi 1 µl 1000 bp DNA ladder, 1 µl Loading Dye 6x, 2 µl *Nuklease-free Water*. Elektroforesis dilakukan dengan tegangan 50 volt selama 50 menit. Setelah itu, gel agarose direndam dalam cairan *ethidium bromida* (EtBr) 0,2% selama 15 menit, lalu dicuci dengan cairan *double distillation water* (ddH<sub>2</sub>O) selama 5 menit dan selanjutnya gel agaros divisualisasi dengan gel dokumentasi (Axygen).

### Sekuensing dan Analisis Sekuen DNA

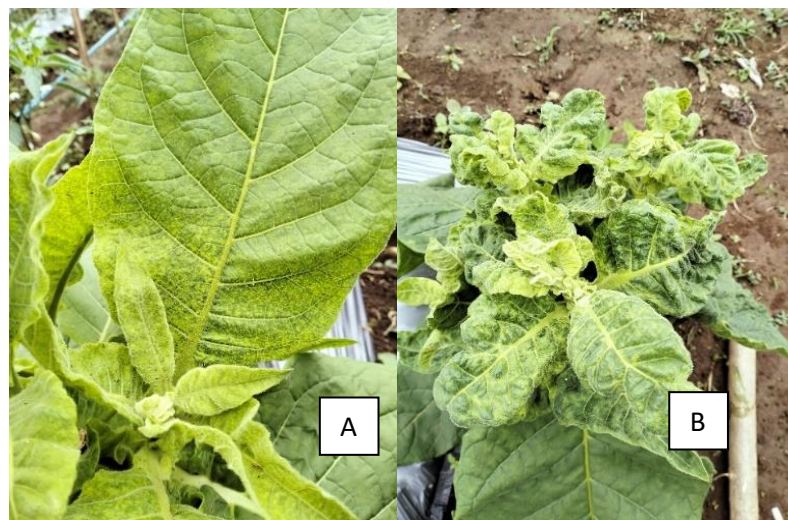
Produk hasil PCR dikirimkan ke First Base, Malaysia, untuk disekuensing. Hasil sekuensing DNA diolah menggunakan perangkat lunak (software) *Molecular Evolutionary Genetics Analysis* (MEGA) (Tamura *et al.*, 2013). Kemudian disejajarkan dengan database GenBank menggunakan perangkat lunak *Basic Local Alignment Search Tool Nucleotide* (BLASTn). Sekuen homolog yang didapatkan disejajarkan menggunakan perangkat lunak MEGA dengan metode bootstrap (nilai bootstrap 1000x). Konstruksi pohon filogenetik menggunakan Neighbour Joining Program (Viljoen *et al.*, 2005).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Gejala Penyakit pada Tanaman Tembakau

Berdasarkan pengamatan di lapangan diperoleh beberapa gejala pada tanaman tembakau yaitu gejala sistemik berupa mosaik kuning dan hijau muda (Gambar 1A), dan mosaik kuning dengan malformasi daun dan kerdil (Gambar 1B). Gejala mosaik hijau muda hingga kuning pada tanaman terinfeksi virus disebabkan adanya gangguan pada proses pembentukan klorofil sehingga klorofil tidak terbentuk sempurna akibatnya terjadi perubahan warna daun (Shakeel *et al.*, 2016; Zhao *et al.*, 2016). Gejala oleh infeksi *Tobacco leaf curl virus* (TLCV) pada tembakau yaitu keriting daun, penebalan tulang daun (*vein banding*), permukaan daun tidak merata, dan daun menjadi kaku. Penyakit ini dikenal dengan penyakit daun keriting pada tembakau pernah

dilaporkan di Indonesia pada 1932 (Trisusilowati *et al.*, 1990).

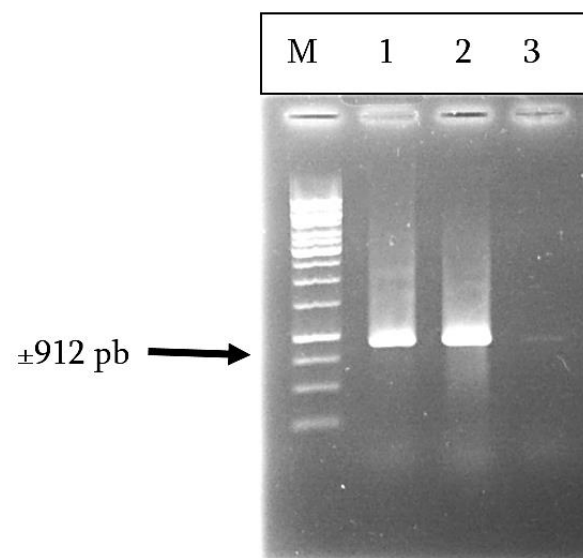


Gambar 1. Gejala penyakit pada tanaman tembakau di Kab. Kepahiang (Bengkulu), (A) Gejala mosaik hijau muda dan kuning sistemik, (B) Gejala keriting, mosaik, vein banding, dan kerdil.

Berdasarkan kemiripan gejala dengan beberapa spesies *Begomovirus*, maka deteksi virus dengan metode PCR menggunakan primer universal untuk *Begomovirus* yaitu SPG1/SPG2. Primer ini mengamplifikasi gen TrAp dan Rep dengan target fragmen  $\pm 912$  pb. Hasil deteksi pada sampel tembakau dengan gejala mosaik hijau muda dan kuning sistemik (Gambar 1A), dan keriting, mosaik, vein banding, kerdil (Gambar 1B) berhasil mengamplifikasi target fragmen  $\pm 900$  pb (Gambar 2). Dengan demikian telah dikonfirmasi bahwa tanaman tembakau tersebut terinfeksi *Begomovirus*.

Selanjutnya dilakukan identifikasi spesies *Begomovirus* pada tembakau dengan menganalisis urutan sikuen DNA yang diperoleh dari sampel tembakau. Berdasarkan homologi sikuen DNA *Begomovirus* asal tembakau dibandingkan dengan isolat lainnya di Genebank, maka diperoleh homologi tertinggi yaitu 99% dengan *Pepper Yellow Leaf Curl Indonesia Virus* (PYLCIV) isolat Bali dengan nomor aksesori LC381263.1 (Tabel 1). Menurut King *et al.* (2012) tingkat kemiripan nukleotida genus *Begomovirus* yang lebih besar dari 89% dapat dikategorikan sebagai satu spesies. Dengan demikian, spesies *Begomovirus* yang menginfeksi tembakau di Bengkulu dengan kemiripan 99% dengan PYLCIV asal tanaman cabai isolat Bali teridentifikasi sebagai *Pepper Yellow Leaf Curl Indonesia Virus* (PYLCIV). PYLCIV telah dilaporkan menginfeksi tanaman cabai di berbagai daerah di Bengkulu (Aulia dkk., 2022; Sipriyadi dkk., 2022). Dengan demikian, PYLCIV

yang menginfeksi tembakau dapat menjadi sumber inokulum bagi tanaman cabai. Berdasarkan laporan ini, maka tumpang sari tembakau dengan cabai tidak dianjurkan karena PYLCIV dari tembakau dapat menular ke tanaman cabai dan sebaliknya. Tumpang sari tanaman lebih baik dilakukan dengan tanaman lainnya yang bukan inang PYLCIV antara lain tanaman jagung.



Gambar 2. Pita DNA hasil amplifikasi menggunakan primer SPG1/SPG2 dari sampel tembakau asal Kab. Kepahiang (M = Penanda DNA 1kb, 1, 2 = Sampel tembakau, 3 = Kontrol negatif)

Tabel 1. Homologi sikuen nukleotida *Begomovirus* pada tembakau di Bengkulu

No	Sikuen	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	Begomovirus_Nicotiana tabacum_Bengkulu	ID										
2	PYLCIV_Jawa_MZ605 913.1	98	ID									
3	PYLCIV_Bali_LC3812 63.1	99	100	ID								
4	PYLCIV_Bali_LC3812 64.1	98	100	99	ID							
5	PYLCIV_Bali_MN094 868.1	98	100	99	99	ID						
6	PYLCIV_Bogor_DQ08 3764.1	98	100	99	99	100	ID					
7	PYLCIV_Bogor_DQ08 3765.1	98	100	99	99	100	100	ID				
8	PYLCIV_Indonesia_AB 267838.1	98	100	99	99	100	100	100	ID			
9	PYLCIV_Jawa Timur_MN738463.1	98	100	99	99	100	100	100	100	ID		
10	PYLCIV_Indonesia_AB 267836.1	98	100	99	99	100	100	100	100	100	ID	
11	PYLCIV_Jawa Timur_MN738466.1	98	100	99	99	100	100	100	100	100	100	ID

Penyakit daun keriting pada tembakau dikenal dengan nama penyakit kerupuk, karena daun menjadi mudah robek. Penyakit kerupuk oleh infeksi PYLCIV pada tembakau pernah dilaporkan menyebabkan kehilangan hasil hingga 100% di sentra budidaya tembakau di Kab. Limapuluh Kota (Sumatera Barat) (Trisno dkk., 2014). Penyakit kerupuk pada tembakau ditandai dengan gejala klorosis pada daun, tepi daun menggulung dan tanaman menjadi kerdil. Penyakit ini muncul sejak 2008 di sentra budidaya tembakau Sumatera Barat dan menyebabkan kehilangan hasil hingga 100%. Infeksi virus umumnya terjadi pada daun muda saat masa vegetatif awal sehingga menyebabkan tanaman menjadi kerdil, sehingga tanaman tidak berproduksi dengan baik.

PYLCIV merupakan anggota *Begomovirus* yang menjadi salah satu penyebab penyakit utama pada tanaman cabai. Infeksi PYLCV pada tembakau yang ditanam secara tumpang sari maupun sebagai tanaman pinggir pada budidaya cabai sebaiknya tidak dilakukan karena tembakau dapat menjadi sumber inokulum PYLCIV ke tanaman cabai. Tembakau dan cabai juga merupakan inang bagi serangga vektor *B. tabaci*, sehingga keberadaan tanaman sumber inokulum dan adanya serangga vektor dapat menyebabkan penularan dan penyebaran penyakit yang tinggi di lapangan.

### SIMPULAN

Gejala keriting kuning, malformasi daun, dan kerdil pada tanaman tembakau di Kab. Kepahiang

disebabkan oleh infeksi *Begomovirus*. Homologi *Begomovirus* pada tembakau menunjukkan kemiripan 99% dengan isolat *Pepper Yellow Leaf Curl Indonesia Virus* (PYLCIV) pada cabai di Bali (nomor akses LC381263). Hasil identifikasi ini merupakan laporan pertama infeksi PYLCIV pada tanaman tembakau di Bengkulu. Tumpang sari tembakau dengan cabai tidak dianjurkan karena PYLCIV dari tembakau dapat menular ke tanaman cabai dan sebaliknya.

### DAFTAR PUSTAKA

- Aulia, E, M Sutrawati, dan T Pamekas. 2022. Deteksi dan analisis genetik *Begomovirus* pada tanaman cabai di Desa Pematang Donok. *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian Indonesia*. 24(2): 69–74.
- Doyle, JJ, and JL Doyle. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*. 12: 13–15.
- Hidayat, SH, OC Panich, and N Aidawati. 2008. Molecular identification and sequence analysis of Tobacco Leaf Curl Begomovirus from Jember, East Java, Indonesia. *Hayati Journal of Biosciences*. 15(1): 13–17.
- King, AMQ, MJ Adams, EB Carstens, and EJ Lefkowitz. 2012. *Virus Taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses*. Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Elsevier. Amsterdam.
- Kumar, A, P Kumar, M Kumar, AS Aman, and PK Mishra. 2023. Whitefly (*Bemisia tabaci*): A

- viral Vector of Plant Diseases and its Management. Agriculture & Food: E-Newsletter. 5(2): 1–5.
- Li, R, S Salih, and S Hurtt. 2004. Detection of *Geminiviruses* in sweetpotato by polymerase chain reaction. Plant Disease. 88: 1347–1351.
- Marpaung, NKB, M Sutrawati, DW Ganefianti, RR Novanda, dan T Pamekas. 2023. Infeksi *Ageratum Yellow Vein Virus* pada gulma *Crassocephalum crepidioides* di Bengkulu. Jurnal Fitopatologi Indonesia. 19(1): 39-44.
- Maruthi, MN, SN Alam, KA Kader, AR Rekha, and J Colvin. 2005. Nucleotide sequencing, whitefly transmission, and screening tomato for resistance against two newly described *Begomoviruses* in Bangladesh. Journal of Phytopathology. 95: 1472–1481.
- Samretwanich, K, P Chiemsombat, K Kittipakorn, and M Ikegami. 2000. A new geminivirus associated with a yellow leaf curl disease of pepper in Thailand. Plant Disease. 84:1047. DOI: 10.1094/PDIS.2000.84.9.1047D.
- Shakeel, MT, MA Amer, MA Al-Saleh, M Ashfaq, and MI Haq. 2016. Changes in chlorophyll, phenols, sugars and mineral contents of cucumber plants infected with cucumber mosaic virus. Journal of Phytopathology and Pest Management. 3(1): 1–11.
- Sipriyadi, S, ANA Rahman, W Darwis, RH Wibowo, M Sutrawati, CM Hutasoit, YKS Sihotang, dan R Setiawan. 2022. Pencirian genetik *Pepper Yellow Leaf Curl Virus* pada tanaman cabai merah (*Capsicum annuum*) di Bengkulu. Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia, 27(4): 574–581.
- Sutrawati, M, SH Hidayat, BPW Sukarno, dan A Nurmansyah. 2020. Penyakit mosaik kuning pada kedelai. Jurnal Fitopatologi Indonesia. 16(1): 30–36.
- Sutrawati, M, Parwito, Priyatiningih, A Zarkani, S Sipriyadi, Y Sariasih, and DW Ganefianti. 2021. First report of *Begomovirus* infection on papaya in Bengkulu, Indonesia. Jurnal Hama dan Penyakit Tropika. 21(1): 49–55.
- Sutrawati, M, CM Hutasoit, S Sipriyadi, YKS Sihotang, P Parwito, and E Aulia. 2022. *Tomato Leaf Curl New Delhi Virus* associated with yellow mosaic disease of cucumber (*Cucumis sativus*) in Bengkulu, Indonesia. Advances in Biological Sciences Research. Vol. 22. 7<sup>th</sup> International Conference on Biological Science (ICBS 2021). DOI: 10.2991/absr.k.220406.001.
- Tamura, K, G Stecher, D Peterson, A Filipski, and S Kumar. 2013. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. Molecular Biology and Evolution. 30(12): 2725–2729.
- Trisno, J, RA Rifqah, dan M Martinius. 2014. Penyakit kerupuk tembakau di Sumatera Barat. Jurnal Fitopatologi Indonesia. 10(6): 210–213.
- Trisusilowati, EB, R Suseno, S Sosromarsono, and MA Nur. 1990. Transmission, serological aspects and morphology of the tobacco krupuk virus. Indonesian Journal of Tropical Agriculture. 2(1): 75–79.
- Van Rogenmortel, MHV, CM Fauquet, DHL Bishop, E Carstens, MK Estes, SM Lemon, and RB Wickner. 2000. Virus Taxonomy. Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Academic Press. San Diego.
- Viljoen, GJ, LH Nel, and JR Crowther. 2005. Molecular Diagnostic PCR Handbook. Springer. Dordrecht.
- Zhao, J, X Zhang, Y Hong, and Y Liu. 2016. Chloroplast in plant-virus interaction. Frontiers in Microbiology. 7: 1565. DOI: 10.3389/fmicb.2016.01565.