

Insidensi Virus dan Cendawan pada Biji dan Umbi Bawang Merah

Incidence of Viruses and Fungi on True Shallot Seed and Shallot Bulb

Ana Septiana Saputri, Efi Toding Tondok, Sri Hendrastuti Hidayat*
Institut Pertanian Bogor, Bogor 16680

ABSTRAK

Bawang merah merupakan salah satu sayuran penting di Indonesia. Petani bawang merah umumnya menggunakan umbi sebagai bahan tanam walaupun ada pilihan untuk menggunakan biji atau *true shallot seed* (TSS). Salah satu kriteria kualitas bahan tanam yang baik ialah bebas dari patogen. Penelitian dilakukan untuk mendeteksi dan mengidentifikasi virus dan cendawan dari TSS dan umbi bibit bawang merah kultivar Bima, Bauji, Thailand, dan Tuk-Tuk. Deteksi virus dilakukan dengan metode *dot immunobinding assay* (DIBA) menggunakan antiserum spesifik OYDV, SLV, SYSV, dan GCLV. Deteksi dan identifikasi cendawan dilakukan berdasarkan metode *blotter test* dan *polymerase chain reaction*. Infeksi OYDV, GCLV, SYSV, dan SLV hanya ditemukan pada umbi bibit bawang merah dengan tingkat infeksi berkisar dari 66% sampai 100%. Empat jenis cendawan yang dideteksi pada TSS dan umbi bibit, yaitu *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *Fusarium solani*, dan *Rhizopus* sp.; sedangkan *F. oxysporum* hanya ditemukan pada umbi bibit. Semua isolat *F. oxysporum* bersifat patogen dan menyebabkan insidensi penyakit mencapai 55%. *F. oxysporum* patogenik menunjukkan homologi 100% dengan *F. oxysporum* dari Cina dan Amerika pada tingkat spesies serta memiliki homologi 91.2% pada tingkat forma spesiales dari India dan Amerika.

Kata kunci: antiserum spesifik, *blotter test*, *dot immunobinding assay*, *Fusarium oxysporum*, true shallot seed, umbi bibit

ABSTRACT

Shallot is an important vegetable in Indonesia. Shallot farmers generally use bulbs as planting material even though there is an option to use true shallot seed (TSS). One important criteria for a good seed quality as planting material is pathogen free. Research was conducted to detect and identify viruses and fungi from TSS and shallot seed bulbs cultivars Bima, Bauji, Thailand, and Tuk-Tuk. Virus detection was carried out by DIBA (*dot immunobinding assay*) method using specific antiserum to OYDV, SLV, SYSV, and GCLV. Detection and identification of fungi was carried out by blotter test method and polymerase chain reaction. Infection of OYDV, GCLV, SYSV, and SLV were only detected in shallot bulbs with infection rates ranging from 66% to 100%. Four species of fungi were detected in TSS and bulbs, i.e. *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *F. solani*, and *Rhizopus* sp; whereas *F. oxysporum* was only found in bulbs. All isolates of *F. oxysporum* was pathogenic and cause disease incidence up to 55%. Pathogenic isolate of *F. oxysporum* had 100% homology to those isolate from China and USA on the spesies level and 91.2% to those isolate from India and USA to the forma spesies level.

Key words: Blotter test, *dot immunobinding assay*, *Fusarium oxysporum*, seed bulb, specific antiserum, true shallot seed

*Alamat penulis korespondensi: Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Jalan Kamper, Kampus Darmaga IPB, Bogor 16680.
Tel : 0251-8629364, Faks : 0251-8629362, Surel : srihendrastutihidayat@gmail.com

PENDAHULUAN

Bawang merah (*Allium cepa* var. *aggregatum*) merupakan tanaman hortikultura yang penting di Indonesia setelah cabai. Produktivitas bawang merah banyak terkendala oleh gangguan hama dan penyakit, terutama penyakit busuk pangkal batang atau “moler” yang disebabkan oleh *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*. Penyakit busuk pangkal batang bawang merah merupakan penyakit yang paling merugikan, menyebabkan kerusakan langsung pada umbi, dan sangat sulit dikendalikan karena *F. oxysporum* bersifat persisten di dalam tanah (Suryaningsih *et al.* 2005). Selain *F. oxysporum*, infeksi virus juga banyak ditemukan pada pertanaman bawang merah walaupun belum dianggap sebagai masalah penting oleh petani bawang merah di Indonesia. Infeksi *Onion yellow dwarf virus* (OYDV), *Shallot yellow stripe virus* (SYSV), *Garlic common latent virus* (GCLV) pada beberapa kultivar bawang merah di Indonesia dilaporkan oleh Gunaeni *et al.* (2011) dan Wulandari *et al.* (2015) dan berpotensi menyebabkan kehilangan hasil.

Di Indonesia, petani bawang merah menggunakan umbi bibit sebagai bahan perbanyak tanaman. Cara budi daya tersebut menimbulkan risiko munculnya penyakit yang tinggi bila tidak dilakukan pemilihan umbi bibit dengan baik. Beberapa jenis patogen, termasuk *F. oxysporum* dan semua jenis virus, diketahui bersifat tular umbi bawang merah dan dapat terakumulasi pada umbi dari satu generasi ke generasi tanaman berikutnya (Loebenstein dan lecoq 2012). Perbanyak bawang merah secara generatif menggunakan biji atau *true shallot seed* (TSS) dapat menjadi alternatif untuk mengatasi permasalahan penyakit terbawa umbi karena hanya sedikit patogen yang dilaporkan dapat tertular melalui TSS (Albrechtsen 2006). Penelitian dilakukan untuk mendeteksi cendawan dan virus dari umbi bibit bawang merah dan TSS.

BAHAN DAN METODE

Umbi bibit bawang merah dan TSS yang diperoleh dari petani penangkar benih atau

dari toko pertanian. Umbi bibit dan TSS kultivar Bima diperoleh dari petani di Brebes (Jawa Tengah), kultivar Bauji dan Thailand dari petani di Nganjuk (Jawa Timur), serta kultivar Tuk-Tuk dari toko pertanian di Bogor (Jawa Barat).

Deteksi Virus dari Umbi Bawang Merah dan TSS

Deteksi virus dari umbi bibit dilakukan dengan mengisolasi tunas adventif di dalam umbi. Deteksi ini dilakukan terhadap 50 umbi pada setiap kultivar menggunakan *dot immunobinding assay* (DIBA). Sementara itu, deteksi virus dari TSS dilakukan dengan metode *growing on test*. Sebanyak 300 TSS dari setiap kultivar uji ditanam pada baki semai selama 2 minggu sebelum diambil daunnya untuk deteksi DIBA. Metode DIBA dilakukan mengikuti protokol yang diuraikan oleh Kadwati dan Hidayat (2015) menggunakan antiserum spesifik untuk GCLV, OYDV, SLV, dan SYSV. Pengamatan dilakukan terhadap persentase umbi dan TSS yang terinfeksi virus, yaitu nisbah antara jumlah umbi/TSS yang terinfeksi virus dan jumlah total sampel yang diuji dikalikan 100%.

Deteksi Cendawan dari Umbi Bawang Merah dan TSS

Deteksi cendawan dilakukan dengan menginkubasi sebanyak 50 cakram umbi (*basal plate*) bibit/kultivar pada medium agar-agar dektrosa kentang (ADK) pada suhu ruang. Sebelumnya, bagian cakram disterilkan permukaannya menggunakan NaOCl 1% selama 1 menit lalu dibilas dengan air sebanyak 3 kali. Deteksi cendawan dari TSS dilakukan pada 400 biji per kultivar dengan metode *blotter test* (Fadhilah *et al.* 2014) dengan suhu heterogen, yaitu suhu ruang selama 2 hari, -20 °C selama 1 hari, dan kembali ke suhu ruang selama 7 hari. Identifikasi cendawan didasarkan pada morfologi menurut Leslie dan Summerell (2006). Pengamatan dilakukan terhadap persentase umbi dan TSS yang terinfeksi cendawan, yaitu nisbah antara jumlah umbi/TSS yang terinfeksi cendawan dan jumlah total sampel yang diuji dikalikan 100%.

Uji Patogenisitas *F. oxysporum*

Uji patogenisitas hanya dilakukan pada isolat *F. oxysporum* yang berhasil diisolasi. Hal ini disebabkan, *F. oxysporum* merupakan cendawan patogen paling penting pada pertanaman bawang merah. Uji ini dilakukan pada umbi bibit kultivar Bima, yaitu sebanyak 25 umbi untuk masing-masing galur cendawan. Umbi yang digunakan dalam pengujian ini terlebih dahulu direndam dalam fungisida sistemik berbahan aktif difenokonazol dan disterilkan dengan NaOCl 1% selama 2 menit. Umbi dibelah secara vertikal, satu bagian belahan umbi diinokulasi dengan biakan murni *F. oxysporum* dan satu bagian belahan lainnya digunakan sebagai kontrol (tidak diberi perlakuan inokulasi). Setelah inokulasi, umbi diletakkan di atas 2 lembar kertas saring dalam cawan petri dan diinkubasi selama 5 hari. Pengamatan dilakukan pada munculnya jaringan nekrosis di bagian cakram yang diinokulasi. Galur dikategorikan sebagai patogen jika terjadi nekrosis pada cakram.

Identifikasi *F. oxysporum* secara Molekul

Isolat *F. oxysporum* yang memberikan reaksi positif pada uji patogenisitas dipilih untuk identifikasi lanjut. Isolasi DNA dilakukan pada spora tunggal *F. oxysporum* dari masing-masing biakan. Spora tunggal dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang berisi larutan dekstrosa kentang (LDK) dan diinkubasi selama 14 hari pada suhu ruang. Miselium yang tumbuh diambil dengan filtrasi vakum dan dicuci menggunakan akuades steril, selanjutnya dikeringanginkan di dalam *laminar air flow*. DNA diekstraksi dan dimurnikan menurut metode Sambrook *et al.* (1989).

Amplifikasi DNA cendawan dilakukan pada mesin Thermo cycle PCR (System 9700; PE Applied Biosystem, USA) menggunakan primer universal ITS1 (5'TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') dan ITS4 (5'TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'), dengan target DNA berukuran 500-600 pb. Reaksi amplifikasi terdiri atas 12.5 µM Dreamtaq® DNA polimerase (Thermo), 0.2 µM primer, 20 ng DNA templat, dan akuades sehingga total volume reaksi 20 µL. Siklus amplifikasi diawali dengan tahap

pradenaturasi pada 94 °C selama 5 menit, diikuti dengan 35 siklus yang terdiri atas tahap denaturasi pada suhu 94 °C selama 1 menit, aneling pada suhu 44 °C selama 1 menit, elongasi pada suhu 72 °C selama 2 menit dan elongasi akhir pada suhu 72 °C selama 10 menit. Amplikon divisualisasi dengan elektroforesis.

Masing-masing DNA sampel hasil amplifikasi dikirim ke FirstBase, Malaysia untuk perunutan sikuen nukleotida. Analisis sikuen nukleotida menggunakan beberapa piranti lunak secara bertahap, yaitu CLC sequence viewer versi 7.5, *basic local alignment tool* (BLAST), NCBI 2015 dan *ClustalW multiple alignment* dengan *BioEdit* versi 7.1.7.0.

HASIL

Cendawan dan Virus dari Umbi dan TSS

Infeksi OYDV, GCLV, SLV, dan SYSV tidak ditemukan pada empat kultivar TSS. Persentasi infeksi virus pada umbi bawang merah sebesar 66–100% (Tabel 1).

Jenis cendawan yang berhasil diisolasi dari TSS dan umbi bibit bawang merah ialah *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *F. solani*, dan *Rhizopus* sp.; sedangkan *F. oxysporum* hanya ditemukan pada umbi bibit. Persentase infeksi cendawan pada umbi bibit lebih tinggi dibandingkan dengan TSS. Dua spesies cendawan dengan persentase infeksi tertinggi pada keempat kultivar umbi bibit ialah *F. oxysporum* dan *F. solani* (Tabel 2).

Patogenisitas dan Identifikasi *F. oxysporum*

Sebanyak 4 isolat *F. oxysporum* berhasil diisolasi dari umbi bibit bawang merah dan keempatnya menimbulkan gejala nekrosis pada uji patogenesis menggunakan umbi kultivar Bima (Gambar 1). Gejala nekrosis muncul pada jaringan umbi di sekitar tempat inokulasi dengan persentase infeksi penyakit mencapai 55%. Hasil ini membuktikan bahwa isolat *F. oxysporum* yang ditemukan dari umbi bawang merah berpotensi sebagai patogen.

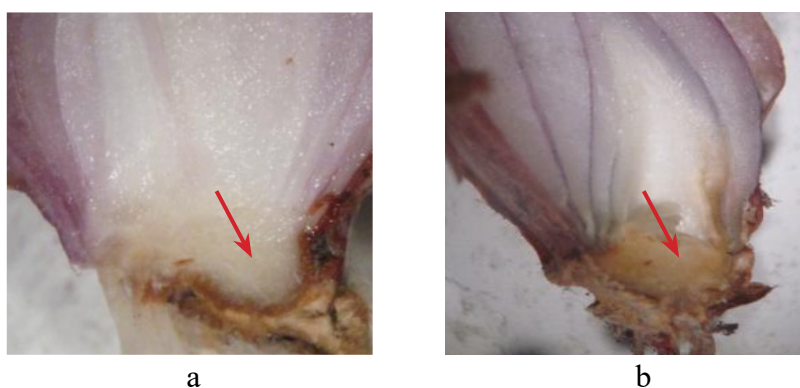
Identifikasi isolat *F. oxysporum* patogenik secara molekul mengonfirmasi hasil identifikasi morfologi. Sikuen fragmen DNA cendawan hasil amplifikasi dengan primer ITS1/ITS4 (Gambar 2) memiliki homologi

Tabel 1 Persentase infeksi virus terbawa biji (TSS) dan umbi bibit bawang merah

Kultivar	Biji				Umbi bibit			
	OYDV	SLV	GCLV	SYSV	OYDV	SLV	GCLV	SYSV
Bima	0	0	0	0	100	92	66	100
Bauji	0	0	0	0	100	88	80	100
Thailand	0	0	0	0	100	100	100	100
Tuk-Tuk	0	0	0	0	100	90	90	88

Tabel 2 Persentase infeksi cendawan terbawa biji (TSS) dan umbi bibit beberapa kultivar bawang merah

Cendawan	Biji				Umbi bibit			
	Bima	Bauji	Thailand	Tuk-Tuk	Bima	Bauji	Thailand	Tuk-Tuk
<i>Aspergillus niger</i>	7.0	5.2	1.2	2.0	16.0	10.0	30.0	20.0
<i>A. flavus</i>	3.2	1.2	1.2	1.0	10.0	6.0	10.0	12.0
<i>Fusarium oxysporum</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	10.0	16.0	30.0	34.0
<i>F. solani</i>	0.2	0.2	1.5	2.3	20.0	20.0	34.0	36.0
<i>Rhizopus</i> sp.	0.0	3.0	0.0	0.2	10.0	10.0	10.0	10.0

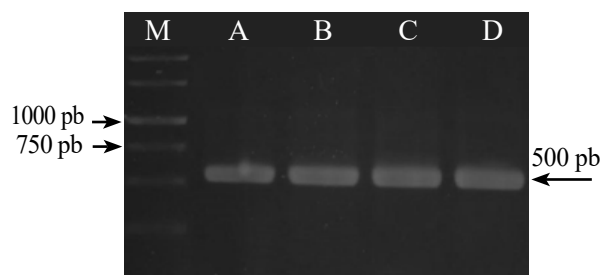


Gambar 1 Gejala pada umbi bawang merah kultivar Bima oleh *Fusarium oxysporum*. a, Umbi tidak bergejala dan b, Umbi bergejala nekrosis pada bagian cakram.

100% dengan *F. oxysporum* yang berasal dari Cina dan Amerika Serikat. Analisis sikuen lebih lanjut menunjukkan bahwa sikuen tersebut memiliki homologi tertinggi sebesar 91.2%, pada tingkat forma spesies terhadap *F. oxysporum* f. sp. *cepae* dari India dan Amerika (Tabel 3). Dengan demikian, *F. oxysporum* asal umbi bawang merah di Indonesia tidak identik dengan *F. oxysporum* f. sp. *cepae* dari bawang merah asal negara lain.

PEMBAHASAN

Infeksi virus pada umbi bawang merah dapat menyebabkan kerugian secara langsung maupun tidak langsung. Kerugian secara



Gambar 2 Visualisasi pita DNA *Fusarium oxysporum* hasil amplifikasi menggunakan pasangan primer universal ITS1/ITS4. M, Penanda molekular (1 Kb, ThermoScientific); A, B, C, dan D berturut-turut *F. oxysporum* isolat 1, 2, 3, dan 4.

Tabel 3 Homologi nukleotida isolat *Fusarium oxysporum* dari umbi bawang merah kultivar Bima dengan beberapa aksesori di GenBank

Isolat <i>Fusarium oxysporum</i>	Nomor aksesori	Homologi nukleotida (%)
<i>F. oxysporum</i> China	JN618351	100.0
<i>F. oxysporum</i> Amerika	FJ1967661	100.0
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cepae</i> India	KX655587	91.2
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cepae</i> Amerika	HQ658969	91.2
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cepae</i> Amerika	HQ658955	91.2
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cepae</i> Amerika	HQ658958	91.2
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cepae</i> Amerika	HQ658962	91.2
<i>Glomerella acutata</i> Amerika	FJ9725911	41.3

langsung telah dilaporkan oleh Elnagar *et al.* (2011). Mereka menyatakan bahwa adanya infeksi OYDV pada bawang merah dan bawang putih di Mesir dapat menurunkan bobot umbi sebesar 41.8%, sedangkan Bagi *et al.* (2012) melaporkan kehilangan hasil yang disebabkan infeksi OYDV dapat menurunkan bobot umbi sebesar 21.5%. Kerugian tidak langsung terjadi karena adanya peningkatan titer virus pada pertumbuhan bawang merah pada setiap stadiumnya (Pauzi *et al.* 2018). Hal tersebut menyebabkan adanya potensi umbi bibit sebagai sumber utama infeksi virus di lapangan.

Berbeda dengan infeksi virus yang belum banyak diketahui oleh para petani, penyebab penyakit dari golongan cendawan telah menjadi permasalahan utama yang dikeluhkan oleh petani bawang merah, terutama penyakit busuk pangkal batang atau penyakit moler. Penyakit ini dapat menyebabkan kerusakan langsung pada umbi sehingga dapat menurunkan hasil panen hingga 50% (Witianingsih 2009), bahkan Tondok (2001) melaporkan bahwa kerusakan akibat penyakit busuk pangkal batang dapat mencapai 100%. Beberapa spesies *Fusarium* berhasil diisolasi dari tanaman bawang merah yang menunjukkan gejala busuk pangkal batang, tetapi penyebab penyakit busuk pangkal batang yang paling spesifik pada genus *Allium* ialah *F. oxysporum* f. sp. *cepae*. *F. oxysporum* yang diperoleh dari umbi bibit bawang merah dalam penelitian ini perlu dikonfirmasi lebih lanjut. Uji kisaran inang dapat memastikan bahwa isolat tersebut adalah

F. oxysporum f. sp. *cepae*. Analisis sikuen gen ITS yang dilakukan belum dapat memastikan identitas galur *F. oxysporum* yang diperoleh.

Sampai saat ini petani bawang merah di Indonesia umumnya masih menggunakan umbi bibit hasil panen musim tanam sebelumnya sebagai sumber benih. Umbi bibit bawang merah yang diperoleh dari tanaman pada musim tanam sebelumnya akan memiliki sifat sama persis dengan induknya, tetapi memiliki potensi membawa patogen. Oleh karena itu, Direktorat Jenderal Hortikultura Kementerian Pertanian RI telah menetapkan berbagai kebijakan terkait perbenihan bawang merah. Salah satu di antaranya ialah pengembangan TSS untuk meningkatkan produktivitas bawang merah pada tahun 2017. Penggunaan TSS sebagai sumber benih memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan umbi bibit, di antaranya produktivitas lebih tinggi, jumlah kebutuhan benih lebih sedikit (hanya 3–7.5 kg ha⁻¹), biaya produksi dan distribusi lebih murah dan mudah, dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama, dan yang paling penting ialah bebas virus dan penyakit tular benih lainnya (Pangestuti dan Sulistyarningsih 2011). Meskipun TSS memiliki banyak keunggulan sebagai bahan tanam, para petani bawang merah di Indonesia masih tetap memilih menggunakan umbi bibit sebagai bahan tanam. Hal ini disebabkan budi daya TSS memiliki waktu panen yang lebih lama dibandingkan dengan umbi bibit dan petani juga belum meyakini kelayakan ekonomis dari teknologi TSS terhadap hasil produksi bawang merah.

Deteksi virus dan cendawan yang dilakukan pada bawang merah kultivar Bima, Bauji, Thailand, dan Tuk-tuk mengonfirmasi bahwa frekuensi infeksi virus dan cendawan pada umbi bibit bawang merah lebih tinggi dibandingkan dengan TSS.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Australian Center for International Agricultural Research yang telah mendanai penelitian ini melalui kerja sama penelitian berjudul *Sustainable Productivity Improvements in Alliums and Solanaceous Vegetable Crops in Indonesia and Sub-Tropical Australia* (SCMN/2009/056).

DAFTAR PUSTAKA

- Albrechtsen. 2006. *Testing Methods for Seed Transmitted Viruses: Principles and Protocols*. Cambridge: CABI.
- Bagi F, Stojsin V, Budakov D, Salma MAE, Varga JG. 2012. Effect of *Onion yellow dwarf virus* (OYDV) on yield components of fall garlic (*Allium sativum* L.) in Serbia. *Afr J Agric Res*. 7(15):2386–2390. DOI: <https://doi.org/10.5897/ajar11.1772>.
- Elnagar S, Kader MA, El Wahab AS. 2011. Effect of natural infection with Onion yellow dwarf virus (OYDV) on yield of onion and garlic crops in Egypt. *J Life Sci*. 5: 634–638.
- Fadhilah, Wiyono S, Surahman. 2014. Pengembangan teknik deteksi *Fusarium* patogen pada umbi benih bawang merah (*Allium ascalonicum*) di Laboratorium. *J Hort*. 24(2):171–178. DOI: <https://doi.org/10.21082/jhort.v24n2.2014.p171-178>.
- Gunaeni N, Wulandari AW, Duriat AS, Muharam A. 2011. Insidensi penyakit tular umbi pada tiga belas varietas bawang merah asal Jawa Barat dan Jawa Tengah. *J Hort*. 21(2):164–172. DOI: <https://doi.org/10.21082/jhort.v21n2.2011.p164-172>.
- Kadwati, Hidayat SH. 2015. Deteksi virus utama bawang merah dan bawang putih dari daerah Jawa Barat dan Jawa Tengah. *J Fitopatol Indones*. 11(4):121–127. DOI: <https://doi.org/10.14692/jfi.11.4.121>.
- Leslie J, Summerell BA. 2006. *The Fusarium Laboratory Manual*. Australia (AU). Blackwell Publishing Asia.
- Loebenstein G, Lecoq H. 2012. *Viruses and Virus Diseases of vegetables in The Mediterranean Basin*. Waltham (USA): Academic Press of Elsevier.
- Pangestuti R, Sulistyawati E. 2011. Potensi penggunaan *true seed shallot* (TSS) sebagai sumber benih bawang merah di Indonesia. *Dukungan Agro-Inovasi untuk Pemberdayaan Petani*; 2011 Juli 14; Semarang, Indonesia. Semarang (ID): Balai Pengkajian Teknologi Pertanian. hlm 258–266.
- Pauzi YS, Lestari SM, Hidayat SH. 2018. Variation of *Garlic common latent virus* and *Shallot latent virus* Concentration on shallot and garlic. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 197 012045. Hlm 1–8. DOI: <https://doi.org/10.1088/1755-1315/197/1/012045>.
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. 1989. *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*. 3rd ed. New York (US): Cold Spring.
- Suryaningsih E, Wiwin S, Bagus K. 2005. *Pengenalan Hama dan Penyakit pada Tanaman Bawang Merah dan Pengendaliannya*. Lembang (ID) : Balai Penelitian Tanaman sayuran.
- Tondok ET. 2001. Twisting disease caused by *Fusarium oxysporum* on shallot (*Allium cepa* L. var. *aggregatum* G. Don.) in Indonesia [thesis]. Germany (GE): George-August-University Goettingen.
- Witiansingih S, Wibowo A, Triwahyu E. 2009. Tanggapan tujuh kultivar bawang terhadap infeksi *Fusarium oxysporum* f.sp *cepae* penyebab penyakit moler. *J Pertanian MAPETA*. 12(1):7–13.
- Wulandari AW, Hidayat SH, Sobir. 2015. Deteksi virus pada bawang merah (*Allium cepa* var. *ascalonicum*) dengan metode *dot immuno binding assay*. *J Hort*. 14(4): 350–356. DOI: <https://doi.org/10.21082/jhort.v25n4.2015.p350-356>.