

Deteksi keberadaan virus pada sampel bawang merah (*Allium ascalonicum*) dan bawang putih (*Allium sativum*) di Laboratorium Balai Besar karantina Pertanian Makassar

Syarif Hidayat Amrullah^{1*}, Zulkarnain¹, Damraeni Juhari², Riski Amaliah Ar¹

¹Prodi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar

²Laboratorium Balai Besar Karantina Pertanian Makassar

*Corresponding author: Jl. HM. Yasin Limpo 36 Gowa, Sulawesi Selatan, Indonesia. 92113

E-mail addresses: syarifhidayat.amrullah@uin-alauddin.ac.id

Kata kunci

Allium ascalonicum
Allium sativum
Onion yellow dwarf virus
Metode DAS ELISA
Uji serologi

Diajukan: 29 Juni 2022
Ditinjau: 30 Desember 2022
Diterima: 18 Januari 2023
Diterbitkan: 25 Januari 2023

Cara Sitasi:

S. H. Amrullah, Z. Zulkarnain., D. Juhari., R. A. Ar., "Deteksi keberadaan virus pada sampel bawang merah (*Allium ascalonicum*) dan bawang putih (*Allium sativum*) di Laboratorium Balai Besar Karantina Pertanian Makassar", *Filogeni: Jurnal Mahasiswa Biologi*, vol. 3, no. 1, pp. 6-11, 2023.

Abstrak

Tanaman dan bagian-bagiannya merupakan media pembawa organisme pengganggu tumbuhan (OPT) pada proses karantina tanaman dalam kegiatan pengiriman ekspor maupun impor ataupun pengiriman dari suatu wilayah ke wilayah lain di dalam negeri. OPT adalah semua organisme yang dapat menyebabkan dan menimbulkan kerusakan fisik, gangguan fisiologi dan biokimia, atau kompetisi hara terhadap tanaman budidaya. Salah satu jenis OPT pada tanaman yaitu virus dengan mekanisme penularan secara mekanis melalui organ vegetatif maupun melalui perantara vektor. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendeteksi virus pada media pembawa (tanamana) yaitu bawang merah (*Allium ascalonicum*) dan bawangputih (*A. sativum*) yang merupakan komoditi pertanian penting. Metode yang digunakan yaitu uji serologi dengan metode DAS ELISA untuk mendeteksi keberadaan salah satu jenis virus dengan tingkat infeksi yang cukup tinggi pada tanaman bawang yaitu *Onion yellow dwarf virus* (OYDV). Hasil yang diperoleh dari kedua sampel bawang yaitu bahwa kedua jeni bawang, baik itu bawang merah maupun bawang putih negatif terinfeksi OYDV berdasarkan metode ELISA yang ditunjukkan dengan nilai absorbansi sampel tidak mencapai tiga kali lipat dari nilai absorbansi kontrol negatif serta tidak terjadi perubahan warna pada sumursampel di *microplate*.

Copyright © 2023. The authors. This is an open access article under the CC BY-SA license

1. Pendahuluan

Media pembawa merupakan media yang dapat membawa organisme pengganggu tumbuhan (OPT) pada proses karantina tanaman dalam kegiatan pengiriman ekspor maupun impor ataupun pengiriman dari suatu wilayah ke wilayah lain di dalam negeri [1]. Media pembawa dapat berupa tumbuhan dan bagian-bagiannya atau benda lain yang dapat membawa OPT [2]. *Allium* merupakan salah satu genus tumbuhan monokotil terbesar yang terdiri dari lebih 800 spesies [1]. Spesies dari genus ini tersebar luas di wilayah holarktik. Bawang merah (*A. ascalonicum*) dan bawang putih (*A. sativum*) merupakan tanaman penting di Indonesia karena digunakan sebagai bumbu dapur pada berbagai jenis masakan dan juga berpotensi sebagai bahan baku obat-obatan untuk menyembuhkan berbagai penyakit [2].

Kendala dalam budidaya tanaman bawang yaitu infeksi penyakit yang disebabkan berbagai jenis patogen seperti cendawan, bakteri, dan virus yang mampu menurunkan produksi bawang dengan tingkat infeksi 19-78% [3]. Budidaya bawang putih dan bawang merah di Indonesia diperbanyak secara vegetatif sehingga potensi penularan OPT melalui bagian tanaman sangat tinggi [4]. OPT merupakan organisme yang dapat menyebabkan dan menimbulkan kerusakan fisik, gangguan fisiologi dan biokimia, atau kompetisi hara

terhadap tanaman budidaya [5]. Perbanyakan secara vegetatif dapat menyebabkan berbagai OPT terbawa oleh benih dan terakumulasi dari generasi ke generasi. Kontaminasi OPT ini berakibat dalam penurunan ukuran umbi, memperpendek masa dormansi umbi dan menyebabkan kehilangan hasil panen [6].

Salah satu OPT yang menyerang tumbuhan termasuk bawang adalah virus. Pada tanaman mekanisme infeksi virus melalui penularan secara mekanis dengan gesekan antar daun, alat perkembangbiakan vegetatif (terbawa umbi), dan penularan melalui vektor (kutu daun dan tungau). Infeksi virus pada tanaman bawang akan terakumulasi dari satu generasi ke generasi lainnya melalui organ perbanyakan vegetatif (umbi) [6]. Virus yang terbawa umbi (benih) dapat menghambat pertumbuhan tanaman karena virus berkembang Bersama tanaman tersebut [7]. Gejala awal infeksi virus pada bawang merah berupa garis-garis pendek kuning pada daun muda kemudian berkembang menjadi garis-garis kuning vertikal samar-samar [8]. Gejala lebih lanjut dengan terbentuknya gejala garis kuning vertikal yang terlihat semakin jelas pada seluruh daun. Infeksi virus bahkan dapat menyebabkan tanaman kerdil dengan disertai mengecilnya ukuran daun [9].

Jenis virus yang umum ditemukan pada bagian umbi bawang yang menyebabkan penyakit pada anakannya di antaranya ialah kelompok virus dari genus *Carlavirus*, *Potyvirus*, dan *Allexivirus*. Jenis virus yang banyak ditemukan pada tanaman bawangnya yaitu antara lain *Shallot latent virus* (SLV), *Garlic common latent virus* (GCLV), *Shallot yellow stripe virus* (SYSV) dan *Leek yellow stripe virus* (LYSV) yang merupakan anggota *Potyvirus*, *Mite-born filamentous virus* (MbFV) yang merupakan anggota *Allexivirus*, dan anggota *Carlavirus* yaitu *Onion yellow dwarf virus* (OYDV). Infeksi OYDV pada tanaman bawang dapat menyebabkan kehilangan hasil sebesar 60% dan menurunkan bobot umbi bawang hingga 58,78% [10]. Berdasarkan hal tersebut, maka dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mendeteksi keberadaan salah satu jenis virus yang banyak menginfeksi tanaman bawang yaitu *Onion yellow dwarf virus* (OYDV) dengan waktu yang lebih cepat menggunakan metode DAS ELISA. Hasil yang diperoleh dapat menjadi dasar untuk menentukan ada tidaknya virus OYDV secara cepat khususnya pada tanaman bawang dan umumnya pada berbagai jenis tanaman sehingga dapat meminimalisir penyebaran OPT terutama pada proses ekspor-impor maupun transfer antar wilayah negara yang menjadi tugas pengawasan dari Balai Besar Karantina Pertanian Makassar.

2. Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian kualitatif yang dilaksanakan dari bulan Desember 2021 hingga Februari 2022 di Laboratorium Balai Besar Karantina Pertanian Makassar. Sampel yang digunakan berupa bawang merah (*A. ascolanicum*) asal Nusa Tenggara Timur (Bima) dan bawang putih (*A. sativum*) asal negara China yang merupakan komoditi ekspor-impor yang cukup sering menjadi objek pemeriksaan yang dilakukan oleh Laboratorium Balai Besar Karantina Pertanian Makassar.

Instrumentasi. Alat yang digunakan berupa ELISA reader, sentrifuge, mikropipet, botolsemprot, vortex, refrigerator dan boks inkubasi. Bahan yang digunakan berupa sap sampel, kontrol positif, kontrol negatif, ELISA reagent kit, ELISA buffer kit, microplate, PNP set, aquadest steril, tube sentrifuge 1,5 ml, tip mikropipet dan kertas towel.

Persiapan antibodi target. Lubang microplate diisi dengan 100 µl antibodi target yang telah dilarutkan dalam Carbonat Coating Buffer (CCB) dengan perbandingan sesuai manual reagent yang digunakan. Tahap selanjutnya dilakukan inkubasi pada kotak lembab di suhu ruang selama 4 jam atau pada suhu 4°C selama 1 malam. Microplate dikosongkan kemudian dicuci dengan PBST sebanyak 3X dan microplate dikeringkan dengan cara dibalik

dan ditepuk-tepukkan pada permukaan yang telah dilapisi kertas towel.

General Extract Buffer (GEB). Lubang *microplate* diisi dengan 100 μ l sampel yang telah dilarutkan dalam *General Extract Buffer* (GEB), kemudian dimasukkan kontrol positif (+), kontrol negatif (-), *buffer* sebanyak 100 μ l dan *microplate* diinkubasi dalam kotak lembab pada suhu ruang selama 2 jam atau suhu 4°C selama 1 malam. Selanjutnya *microplate* dikosongkan kemudian dicuci dengan PBST sebanyak 8 kali.

Enzim conjugate. Enzim *conjugate* disiapkan 10 menit sebelum digunakan, lalu diisi ke dalam *microplate* sebanyak 100 μ l yang telah dilarutkan dengan ECI *buffer* dengan perbandingan sesuai manual *reagent* yang digunakan. *Microplate* disimpan ke dalam kotak yang dialasi kertas towel lembab dan diinkubasikan pada suhu ruang selama 2 jam. *Microplate* dikosongkan dan dicuci dengan PBST sebanyak 8 kali.

PNP buffer. PNP tablet dalam substrat *buffer* (1 mg/ml) disiapkan 10 menit sebelum waktu inkubasi berakhir dengan perbandingan 1:1 (tablet 5 mg : 5 ml PNP *buffer*). Pembuatan larutan PNP dilakukan di dalam tabung gelap atau dibungkus dengan aluminium foil untuk menghindari paparan cahaya. Tahap selanjutnya yaitu *microplate* diisi dengan 100 μ l PNP substansi kemudian diinkubasikan dalam kotak lembab pada suhu ruang dan tidak terpapar cahaya selama 30 s/d 60 menit.

Analisis data. Pembacaan hasil ELISA dilakukan secara visual dan dengan menggunakan ELISA *reader*.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Hasil penelitian

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan di Laboratorium Balai Besar Karantina Pertanian Makassar dengan pengujian serologi terhadap dua sampel yang diduga sebagai pembawa OPT yaitu bawang merah (*A. ascolanicum*) yang berasal dari dalam negeri yaitu BIMA, Nusa Tenggara Barat dan bawang putih (*A. sativum*) yang diimpor dari luar negeri (China) didapatkan hasil uji OPT yang ditunjukkan pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Tabel 1. Hasil pengujian serologi pada sampel bawang merah (*Allium ascolanicum*)

Sampel	Nilai absorbansi ELISA			Perubahan warna		Kesimpulan Hasil
	Reader		Rerata	Ulangan 1	Ulangan 2	
	Ulangan 1	Ulangan 2				
Kontrol +	0,397	0,454	0,426	+++	+++	Negatif
Kontrol -	0,276	0,325	0,300	-	-	
<i>Buffer</i>	0,260	0,268	0,264	-	-	
Sampel 1	0,257	0,248	0,252	-	-	

Tabel 2. Hasil pengujian serologi pada sampel bawang putih (*Allium sativum*)

Sampel	Nilai absorbansi ELISA			Perubahan warna		Kesimpulan Hasil
	Reader		Rerata	Ulangan 1	Ulangan 2	
	Ulangan 1	Ulangan 2				
Kontrol +	0,397	0,454	0,426	++	++	Negatif
Kontrol -	0,276	0,325	0,300	-	-	
<i>Buffer</i>	0,260	0,268	0,264	-	-	
Sampel 1	0,269	0,268	0,268	-	-	

3.2 Pembahasan

Virus pada tanaman umumnya dideteksi menggunakan metode serologi. Prinsip uji serologi berdasarkan interaksi antara antigen dan antibodi yang bersifat spesifik sehingga terbentuk kompleks antigen-antibodi. Beberapa metode serologi yang sering digunakan adalah *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA), *dot immuno binding assay* (DIBA), dan *tissue blot immunosorbent assay* (TBIA). Metode serologi yang paling umum digunakan adalah ELISA yang merupakan metode yang cocok untuk analisis cepat dengan jumlah sampel yang banyak [11]. Reaksi ELISA merupakan reaksi spesifik antara antigen dan antibodi. Reaksi ini dapat diketahui hasilnya melalui perubahan warna yang ditunjukkan pada akhir reaksi. Perubahan warna yang ditunjukkan secara kualitatif tersebut dapat dikuantitatifkan melalui alat pembaca yang disebut *ELISA reader*. Instruksi kerja pada metode ini sangat bergantung pada produsen kit antisera. Instruksi kerja dilakukan sesuai dengan protokol yang disediakan oleh produsen antisera. Pada pengujian ini antisera yang digunakan berasal dari produsen Agdia.

Pada penelitian ini, pelaksanaan pengujian dilakukan dengan metode *Double Antibody sandwich- Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay* (DAS ELISA). Letak perbedaannya yaitu jenis enzim yang terikat. Pada metode ini konjugasi enzim dilakukan pada immunoglobulin antivirus. Berdasarkan nilai absorbansi *ELISA reader* yang ditunjukkan pada Tabel 1, pengujian pada sampel bawang merah (sampel 1) dari Nusa Tenggara Timur (Bima) dengan panjang gelombang 405 nm untuk identifikasi OYDV menghasilkan rerata 0,252 dan tidak terjadi perubahan warna. Berdasarkan hal tersebut maka tanaman bawang merah tidak menunjukkan nilai absorbansi di atas tiga kali nilai rata-rata kontrol negatif sehingga diperoleh hasil negatif dari OYDV [12].

Hasil berbeda didapatkan dari penelitian Pakpahan & Doni [13] yaitu hasil uji serologi ELISA menggunakan antibodi virus OYDV pada tanaman bawang merah yang diuji dari lokasi survei menunjukkan bahwa nilai absorbansi kontrol positif pada panjang gelombang 405 nm untuk OYDV adalah 0,646 dan nilai absorbansi kontrol negatif adalah 0,219, sedangkan nilai absorbansi tanaman bawang merah kultivar Tawangmangu Biru lebih dari 0,657. Hal ini menunjukkan bahwa kultivar Tawangmangu Biru positif terkena virus OYDV, sedangkan kultivar lainnya meskipun menunjukkan gejala terserang virus namun tidak positif terserang OYDV. Pada penelitian Wulandari et al. [14], virus OYDV, LYSV, SYSV, dan SLV pada tanaman bawang merah telah dilaporkan dari beberapa daerah sentra produksi bawang merah di Jawa.

Hasil pengujian pada bawang putih (*A. sativum*) dapat dilihat pada Tabel 2. Sampel 2 dengan nilai absorbansi rerata yang didapat 0,268 menunjukkan hasil negatif karena nilai absorbansi yang diperoleh kurang dari tiga kali lipat nilai absorbansi kontrol negatif. Pada penelitian yang dilakukan oleh Maharani [12] menggunakan metode penentuan kriteria positif-negatif yang berbeda. Kriteria yang digunakan berdasar pada *Protocol Bioreba* yang berisi kriteria penentuan positif-negatif untuk pengujian menggunakan metode DAS-ELISA yaitu dengan menggunakan *cut off* sebagai nilai batas untuk penentuan kriteria. Penentuan nilai *cut off* didasarkan pada rata-rata nilai absorbansi tanaman sehat (kontrol negatif). Menurut Maharani [12], metode ini lebih akurat dibandingkan dengan penentuan menggunakan tiga kali absorbansi tanaman sehat (kontrol negatif).

ELISA digunakan sebagai metode dalam pengujian ini karena dapat menghasilkan reaksi spesifik antara antibodi dan antigen (virus target). Keuntungan pengujian dengan metode *Double Antibody sandwich- Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay* (DAS ELISA) dilakukan karena dapat mendeteksi virus pada konsentrasi rendah (1-10 ng/ml),

penggunaan antibodi dalam jumlah sedikit, hasil pengujian pada sampel tanaman sama baiknya dengan pengujian suspensi virus yang dimurnikan, memungkinkan didapatkan hasil secara kuantitatif (nilai absorbansi) selain hasil kualitatif (perubahan warna) [15].

4. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan untuk mendeteksi keberadaan virus *Onion Yellow Dwarf Virus* (OYDV) dapat disimpulkan bahwa hasil pengamatan yang telah dilakukan di Laboratorium BBKP Makassar dari kedua sampel bawang yaitu bawang merah (*Allium ascalonicum*) dan bawang putih (*A. sativum*) dengan uji serologi menggunakan metode DAS ELISA menunjukkan hasil negatif atau tidak terdeteksi keberadaan virus OYDV. Penentuan kriteria positif-negatif didasarkan dari nilai absorbansi masing-masing sampel yang tidak melebihi tiga kali lipat nilai absorbansi kontrol negatif serta tidak terjadi perubahan warna pada sumursampel di *microplate*. Pemilihan metode DAS ELISA pada penelitian ini karena dinilai lebih efektif dengan tingkat sensitivitas yang tinggi dibandingkan dengan teknik deteksi konvensional yang memerlukan waktu yang lebih lama serta tingkat sensitivitas yang lebih rendah.

Daftar Pustaka

- [1] I. Vučurović, D. Nikolić, N. Radović, A. Vučurović, D. Ristić, B. Krstić, and I. Stanković, "Incidence and distribution of leek yellow stripe virus in alliumcrops in Serbia," *Pestic. i fitomedicina*, vol. 32, no. 3–4, pp. 145–155, 2017, doi: 10.2298/pif1704145v.
- [2] A. K. Karjadi and N. Gunaeni, "Efek Antiviral Ribavirin Dalam Pertumbuhan dan Perkembangan Eksplan Bawang Putih Cv. Lumbu Hijau, Cv. Lumbu Kuning Dan Cv.Tawangmangu," *Agrin*, vol. 22, no. 2, p. 93, 2019, doi: 10.20884/1.agrin.2018.22.2.445.
- [3] N. Nurviani, S. Sulandari, S. Somowiyarjo, and S. Subandiyah, "Deteksi Virus Terbawa Umbi Benih pada Bawang Merah Kultivar Biru Bantul," *J. Fitopatol. Indones.*, vol. 12, no. 5, p. 185, 2017, doi: 10.14692/jfi.12.5.185.
- [4] A., B. S. Purwoko, S. H. Hidayat, and D. Dinarti, "Eliminasi Onion yellow dwarf virus melalui Kultur Meristem Tip pada Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.)," *J.Hortik. Indones.*, vol. 8, no. 1, p. 22, 2017, doi: 10.29244/jhi.8.1.22-30.
- [5] A. K. Karjadi and N. Gunaeni, "The influence of variety and explant size on Garlic (*Allium sativum* L) proliferation using Murashige and Skoog media," *IOP Conf. Ser.Earth Environ. Sci.*, vol. 653, no. 1, 2021, doi: 10.1088/1755-1315/653/1/012062.
- [6] A. W. W. Wulandari, S. Sobir, and S. H. Hidayat, "Pengaruh Kombinasi Perlakuan Air Panas dan Kultur Jaringan terhadap Infeksi Virus pada Bawang Merah," *J. Fitopatol. Indones.*, vol. 17, no. 2, pp. 49–57, 2021, doi: 10.14692/jfi.17.2.49-57.
- [7] M. Miftakhurohmah and R. Balfas, "Karakteristik Biologi dan Biologi Molekuler serta Pengendalian Virus Penyebab Penyakit Kerdil Pada Lada," *Perspektif*, vol. 13, no. 1, pp. 53–62, 2014.
- [8] S. S. Nasution, D. Dinarti, and S. H. Hidayat, "Pengaruh Elektrotterapi dan Termoterapi secara in Vitro terhadap Eliminasi *Onion yellow dwarf virus*," *J. Fitopatol. Indones.*, vol. 13, no. 6, p. 199, 2018, doi: 10.14692/jfi.13.6.199.
- [9] K. Kadwati and S. H. Hidayat, "Deteksi Virus Utama Bawang Merah dan Bawang Putih dari Daerah Jawa Barat dan Jawa Tengah," *J. Fitopatol. Indones.*, vol. 11, no. 4, pp. 121–127, 2015, doi: 10.14692/jfi.11.4.121.
- [10] W. Sari and S. A. Inayah, "Inventarisasi Penyakit Pada Dua Varietas Lokal Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.) Bima Brebes dan Trisula," *Pro-STek*, vol. 2, no. 2, p. 64, 2020, doi: 10.35194/prs.v2i2.1166.
- [11] E. Siswadi, S. U. Putri, R. Firgiyanto, and C. F. Putri, "Increased of Growth and Production of Garlic (*Allium sativum* L.) through Vernalization and BAP (BenzylAmino Purine) application," *Agrovigor*, vol. 12, no. 2, pp. 53–58, 2019.
- [12] N. A. Maharani, "Deteksi Sugarcane Mozaic Virus (SCMV) pada Varietas Tebu (*Saccharum officinarum* L.) menggunakan Metode Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)," [Skripsi], Jember: Universitas Jember.
- [13] A. V. Pakpahan and D. Doni, "Implementasi Metode *Forward Chaining* Untuk Mendiagnosis Organisme

- Pengganggu Tanaman (OPT) Kopi,” *Simetris J. Tek. Mesin, Elektro dan Ilmu Komput.*, vol. 10, no. 1, pp. 117–126, 2019, doi: 10.24176/simet.v10i1.2800.
- [14] A. W. Wulandari, S. H. Hidayat, and S. Sobir, “Deteksi Virus pada Bawang Merah (*Allium cepa* var. *ascalonicum*) dengan Metode *Dot Immuno Binding Assay*,” *J. Hortik.*, vol. 25, no. 4, p. 350, 2016, doi: 10.21082/jhort.v25n4.2015.p350-356.
- [15] T. Arisuryanti, B. S. Daryono, S. Hartono, A. Agung, and G. Raka, “Observasi dan Identifikasi Virus yang Menginfeksi Bawang Merah di Jawa,” *J. Perlindungan Tanam. Indones.*, vol. 14, no. 2, pp. 55–62, 2008.