

KOMUNIKASI SINGKAT

Metode Kultur Meristem untuk Eliminasi Virus dari Umbi Bawang Merah

Meristem Culture Method for Virus Elimination from Shallot Bulb

Prabawati Hyunita Putri, Diny Dinarti, Sri Hendrastuti Hidayat*
Institut Pertanian Bogor, Darmaga, Bogor 16680

ABSTRAK

Petani bawang merah di Indonesia menggunakan umbi hasil panen sebagai sumber benih untuk musim tanam berikutnya. Hal tersebut dapat menyebabkan akumulasi virus pada umbi meningkat dan menjadi penyebab terjadinya penurunan produktivitas tanaman. Penelitian dilakukan dengan tujuan mengoptimasi metode kultur meristem yang dikombinasikan dengan teknik termoterapi (30 °C) untuk menghasilkan umbi bawang merah yang bebas virus. Umbi bawang merah cv. Bima Curut yang sudah dikonfirmasi terinfeksi Potyvirus dan Carlavirus digunakan sebagai bahan eksplan. Sterilisasi umbi dilakukan secara bertahap menggunakan bakterisida, fungisida, dan sodium hipoklorit. Tunas meristem berukuran 0.6 sampai 0.7 mm diisolasi dari umbi dan ditanam berturut-turut pada medium penginduksi tunas, akar, dan umbi sampai terbentuk umbi mini. Umbi mini selanjutnya ditanam di rumah kaca sampai terbentuk umbi mikro. Hasil deteksi virus dengan metode *reverse transcription polymerase chain reaction* mengonfirmasi bahwa *plantlet* pada tahap multiplikasi dan tanaman di rumah kaca bebas dari infestasi Potyvirus dan Carlavirus. Penelitian ini menunjukkan bahwa metode kultur meristem yang dikombinasikan dengan termoterapi potensial menghasilkan umbi bawang merah bebas virus.

Kata kunci: Carlavirus, Potyvirus, termoterapi, umbi makro, umbi mini

ABSTRACT

Shallot farmers in Indonesia have commonly grown bulbs from the previous planting season as seed sources for the next season. This may cause the accumulation of viruses in bulbs which in turn lowering plant productivity. A research was conducted to optimize the meristem culture method combined with thermotherapy (30 °C) to produce virus-free shallot bulbs. Shallot bulbs of cv. Bima Curut that had been confirmed infected by Potyvirus and Carlavirus were used as explant sources. Bulb sterilization was carried out using bactericides, fungicides, and sodium hypochlorite. Meristem shoots of 0.6 to 0.7 mm in size were isolated from bulbs and plant successively in the shoot, root, and bulb induction medium to form mini bulbs. The mini bulbs were then planted in the screen house for 2 to 2.5 months until micro bulbs were formed. Virus detection by reverse transcription-polymerase chain reaction method confirmed that plantlets at the multiplication stage and plants in the screen house were free of Potyvirus and Carlavirus infestations. This study showed that the meristem culture method combined with thermotherapy is a potential approach for producing virus-free shallot bulbs.

Keywords: Carlavirus, macro bulb, mini bulb, Potyvirus, thermotherapy

*Alamat penulis korespondensi: Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Jalan Kamper, Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680.
Tel: 0251-8629364, Faks: 0251-8629362, Surel: srihendrastuti@apps.ipb.ac.id

Bawang merah (*Allium cepa* var. *aggregatum*) merupakan komoditas hortikultura yang penting di Indonesia. Sebagian besar petani bawang merah di Indonesia menggunakan umbi sebagai bahan perbanyakan. Hal ini disebabkan produksi biji secara generatif (*true shallot seed/TSS*) sulit dilakukan karena hambatan kondisi iklim. Penggunaan umbi sebagai bahan perbanyakan dapat meningkatkan risiko penularan penyakit, terutama yang disebabkan oleh virus (Saputri *et al.* 2018). Beberapa spesies virus, *Onion yellow dwarf virus* (OYDV), *Garlic common latent virus* (GCLV), dan *Shallot latent virus* (SLV) dilaporkan bersifat tular umbi dengan efisiensi yang sangat tinggi (Harti *et al.* 2018; Wulandari *et al.* 2015).

Metode perbanyakan *in vitro* menggunakan kultur meristem merupakan metode yang banyak digunakan untuk menghasilkan umbi bebas virus (Al Maarri *et al.* 2012). Kultur meristem dapat dikombinasikan dengan teknik lain, seperti termoterapi, kemoterapi, elektroterapi, dan krioterapi untuk meningkatkan keberhasilan memperoleh umbi bebas virus. Teknik termoterapi dan kemoterapi merupakan teknik yang paling banyak digunakan untuk mengeliminasi virus dari bahan kultur jaringan (Rout *et al.* 2006). Upaya mengeliminasi virus dari umbi bawang merah kultivar lokal Indonesia perlu dilakukan dalam rangka penyediaan umbi sehat sebagai bahan perbanyakan. Putri *et al.* (2019) berhasil mendapatkan *plantlet* bawang merah cv. Bima Brebes dan cv. Bima Curut melalui metode kultur meristem yang dikombinasi dengan termoterapi. Sebagai kelanjutan dari penelitian tersebut dilakukan optimasi kombinasi metode kultur meristem dan termoterapi untuk menghasilkan umbi mini yang bebas virus.

Sampel umbi bawang merah cv. Bima Curut diperoleh dari petani di Brebes, Jawa Tengah. Sampel umbi tersebut telah berada 60–70 hari di tempat penyimpanan ketika diambil. Sebanyak 100 sampel umbi ditumbuhkan selama 1 minggu di ruangan dengan suhu dingin (16 °C) sampai muncul daun tunas. Daun tunas dari masing-masing umbi

dikumpulkan dan digunakan sebagai bahan deteksi virus yang dilakukan menggunakan teknik *dot blot immunobinding assay* (DIBA) (Asniwita *et al.* 2012). Hasil deteksi dengan DIBA menunjukkan bahwa infeksi OYDV, GCLV, dan SLV pada sampel bawang merah cv. Bima Curut tergolong tinggi, yaitu berkisar antara 96% dan 100%. Sampel umbi tersebut selanjutnya digunakan sebagai bahan eksplan untuk kultur meristem.

Umbi bawang merah dicuci bersih dengan air dan lapisan luar umbi dibuang. Umbi dicuci kembali dengan deterjen, kemudian dibilas dengan air. Sterilisasi umbi dilakukan melalui beberapa tahapan, diawali dengan merendam umbi dalam 2 g L⁻¹ fungisida (Mancozeb 80%) dan 2 g L⁻¹ bakterisida (Streptomycin Sulfat 20%) selanjutnya diinkubasi semalam. Umbi kemudian direndam dalam larutan sodium hipoklorit 20% sambil digoyang (150 rpm) selama 20 menit. Tahap selanjutnya dilakukan di bawah *laminar air flow*, yaitu berturut-turut membilas umbi dengan air steril sebanyak 3 kali, membuang 2 lapisan terluar umbi, merendam umbi dalam larutan sodium hipoklorit 10% selama 10 menit, dan membilas kembali umbi dengan air steril sebanyak 3 kali. Persiapan bahan eksplan juga dilakukan di bawah *laminar air flow*, yaitu berturut-turut memotong umbi hingga ukuran 5 mm, potongan umbi dicelupkan ke dalam larutan sodium hipoklorit 5% selama 5 menit kemudian ditanam sementara dalam medium MS (*Murashige-skoog*) untuk menghindari kerusakan eksplan. Setiap potongan umbi dipotong menjadi ukuran lebih kecil ($\pm 0.6\text{--}0.7$ mm) menggunakan ujung jarum steril di bawah mikroskop binokuler.

Bahan eksplan ditumbuhkan pada medium penginduksi tunas dengan komposisi medium MS yang ditambah dengan 2ip (2 ppm), GA3 (0.3 ppm), sukrosa 0.3%, dan Gelrite 2 g L⁻¹. Eksplan ditumbuhkan pada kondisi suhu 30 °C; setiap 3 sampai 4 minggu dilakukan subkultur dan multiplikasi pada medium MS yang ditambah dengan 2ip (4 ppm), NAA (0.4 ppm), sukrosa 0.3%, and Gelrite 2 g L⁻¹. *Plantlet* yang bertahan hidup dipindahkan ke medium penginduksi akar dengan komposisi

medium MS yang mengandung sukrosa 0.3% dan Gelrite 2 g L⁻¹. *Plantlet* dengan 2 sampai 3 daun selanjutnya dipindahkan ke medium penginduksi umbi dengan komposisi medium MS yang ditambahkan vitamin B5 dan sukrosa 120 g L⁻¹. *Plantlet* ditumbuhkan pada kondisi suhu 30 °C sampai terbentuk umbi mini, yaitu sekitar 8 sampai 10 minggu.

Tahap aklimatisasi diawali dengan sterilisasi umbi mini, yaitu menyelupkan umbi mini dalam campuran bakterisida (2 g L⁻¹) dan fungisida (2 g L⁻¹) selama 5 menit, kemudian umbi mini dikeringkan menggunakan kertas steril. Masing-masing umbi mini ditanam pada pot yang berisi medium tumbuh dengan komposisi tanah : arang sekam : kompos (1:1:1). Pot ditempatkan di dalam ruang pertumbuhan (50% cahaya matahari) selama 2–3 minggu, diberikan perawatan, yaitu disiram dengan cairan MS setiap 2 atau 3 hari dan pupuk daun 1 minggu sekali. Umbi mini yang sudah mulai bertunas selanjutnya dipindahkan ke pot baru berisi medium tumbuh dengan komposisi medium yang sama dan diletakkan di rumah kaca. Perawatan tanaman terdiri atas penyiraman dengan air setiap 4 atau 7 hari (tergantung kondisi cuaca) dan pemupukan secara bertahap, yaitu 10 g NPK tiap tanaman setiap 2 minggu selama 30 hari pertama dan 3 sampai 5 g NPK ditambahkan 5 sampai 7 g KCl tiap tanaman setiap 2 minggu selama 30 hari berikutnya. Tanaman ditumbuhkan sampai terbentuk umbi mikro, yaitu sekitar 2 sampai 2.5 bulan.

Indeksasi virus dilakukan melalui deteksi virus menggunakan metode *reverse transcription polymerase chain reaction* (RT-PCR) pada tahap multiplikasi *plantlet* dan pembentukan umbi mikro. Ekstraksi RNA total mengikuti protokol Doyle dan Doyle (1987); sedangkan RT-PCR dilakukan dengan target *Potyvirus* dan *Carlavirus* berturut-turut menggunakan primer (U341/Poty1) dan (AlcarF/Poty1) (Chen *et al.* 2001; Langeveld *et al.* 1991).

Perlakuan suhu 30 °C (termoterapi) yang dikombinasikan dengan kultur meristem tidak mengganggu pertumbuhan *plantlet*. Sebanyak 47 *plantlet* dari total 47 eksplan yang ditanam berhasil tumbuh. Tahapan sterilisasi yang dilakukan juga tergolong efektif karena tidak

ditemukan kontaminasi pada medium pertumbuhan *plantlet*. Sebanyak 24 *plantlet* digunakan sebagai bahan indeksasi virus dan hasil deteksi menunjukkan bahwa seluruh *plantlet* bebas virus. Pita DNA virus target, yaitu *Potyvirus* dan *Carlavirus* tidak teramplifikasi dari *plantlet* yang diuji. *Plantlet* yang sudah terbukti bebas virus dilanjutkan untuk tahap pembentukan umbi mini, aklimatisasi, sampai pembentukan umbi mikro. Sebanyak 14 *plantlet* berhasil bertahan sampai pada tahap pembentukan umbi mikro; hasil indeksasi virus menunjukkan bahwa seluruh tanaman asal *plantlet* tersebut bebas dari infestasi virus target, yaitu *Potyvirus* dan *Carlavirus*. Jumlah umbi yang terbentuk dari setiap tanaman bebas virus berkisar antara 1 dan 8 umbi, dengan diameter umbi dan bobot kering umbi berturut-turut berkisar antara 1.3 dan 3.2 cm serta 3.24 dan 7.40 g (Tabel 1 dan Gambar 1).

Metode kultur meristem telah dilaporkan mampu mengeliminasi virus pada berbagai jenis tanaman. Pada tanaman ubi jalar, perlakuan termoterapi 39 sampai 42 °C terhadap umbi selama 4 minggu dan dilanjutkan dengan isolasi kultur pucuk meristem berukuran 0.25 mm berhasil mengeliminasi *Sweetpotato feathery mottle virus* (SFMV), dengan persentase tunas yang tumbuh sebesar 96% (Mervat dan Ashoub 2009). Kombinasi termoterapi dan kultur meristem dalam penelitian ini juga berhasil mendapatkan tanaman bawang merah cv. Bima Curut yang bebas dari infeksi *Potyvirus* dan *Carlavirus*. Umbi yang dihasilkan oleh tanaman bawang merah bebas virus yang ditanam pada kondisi terkontrol di rumah kaca tersebut diharapkan juga bebas virus. Keberhasilan eliminasi virus melalui kombinasi metode kultur meristem dan termoterapi dapat dijelaskan dari beberapa aspek. Bagian meristem tanaman dengan ukuran kurang dari 1.0 mm relatif bebas virus karena plasmodesmata yang merupakan jalur perpindahan virus antar sel belum terbentuk pada bagian ini. Perlakuan suhu panas yang diberikan selama pertumbuhan *plantlet* dapat menyebabkan plasmodesmata menyempit sehingga menghambat distribusi

Tabel 1 Tinggi tanaman bawang merah yang ditanam di rumah kaca dan jumlah, diameter serta bobot kering umbi yang dihasilkan

Kode tanaman	Tinggi tanaman (cm)	Jumlah umbi	Diameter umbi (cm)	Bobot kering umbi (g)
6.5	21.3	1	1.3	3.24
5.7	46.5	5	2.5	7.40
5.8 (1)	41.2	2	3.2	5.84
5.8 (2)	46.1	2	3.0	4.30
4.7 (1)	42.3	8	3.1	5.62
4.7 (2)	40.1	7	3.0	4.89
4.7 (3)	39.8	3	2.8	5.00
6.3 (1)	45.7	4	3.0	6.10
6.3 (2)	46.3	2	2.8	6.35
4.2	51.2	4	3.1	7.35



Gambar 1 Umbi mikro bawang merah yang dihasilkan oleh tanaman bebas virus yang ditanam di rumah kaca. Umbi kering (atas); umbi basah (bawah).

virus. Termoterapi juga dapat mengaktifkan pertahanan tanaman terhadap virus berupa *RNA silencing* (Wang *et al.* 2008).

Penggunaan umbi bawang merah bebas virus merupakan salah satu langkah yang efektif untuk mengurangi inokulum awal di lapangan. Walaupun reinfeksi virus di lapangan dapat terjadi, namun perkembangan penyakit dapat diperlambat. Metode kultur meristem, dengan ukuran eksplan <1 mm yang

dikombinasi dengan teknik termoterapi (suhu 30 °C) merupakan metode yang potensial untuk menghasilkan umbi bawang merah bebas virus.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Australian Centre for International Agricultural Research yang mendanai penelitian ini melalui

kerjasama penelitian (HORT 2009/056 Project) “Sustainable productivity improvements in alliums and solanaceous vegetable crops in Indonesia and sub-tropical Australia”.

DAFTAR PUSTAKA

- Al Maarri K, Massa R, Albinski F. 2012. Evaluation of some therapies and meristem culture to eliminate *Potato Y Potyvirus* from infected potato plants. *Plant Biotechnol.* 29(3):237–243. DOI: <https://doi.org/10.5511/plantbiotechnology.12.0215a>.
- Asniwita, Hidayat SH, Suastika G, Sujiprihati S, Susanto S, Hayati I. 2012. Eksplorasi isolat lemah *Chili veinal mottle potyvirus* pada pertanaman cabai di Jambi, Sumatera Barat, dan Jawa Barat. *J Hort.* 22(2): 181–186. DOI: <https://doi.org/10.21082/jhort.v22n2.2012.p181-186>.
- Chen JJ, Chen, Adam MJ. 2001. Molecular characterization of a complex mixture of viruses in garlic with mosaic symptoms in China. *Arch Virol.* 146:1841–1853. DOI: <https://doi.org/10.1007/s007050170037>.
- Doyle JJ, Doyle JL. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem Bull.* 19:11–15.
- Harti H, Sobir, Wiyono S, Hidayat SH. 2018. Perlakuan air panas pada umbi bawang merah (*Allium cepa* var. *ascalonicum*) untuk menekan infeksi virus di lapangan *J Hort Indones.* 9(3):149–157. DOI: <http://dx.doi.org/10.29244/jhi.9.3.149-157>.
- Langeveld SA, Dore JM, Memelink J, Derks AFLM, van der Vlugt CIM, Asjes CJ, Bol JF. 1991. Identification of potyviruses using the polymerase reaction with degenerate primers. *J Gen Virol.* 72(7):1531–1541. DOI: <https://doi.org/10.1099/0022-1317-72-7-1531>.
- Mervat MME, Ashoub A. 2009. Utility of thermotherapy and meristem tip for freeing sweetpotato from viral infection. *Aust J Basic Appl Sci.* 3(1):153–159.
- Putri PH, Hidayat SH, Dinarti D. 2019. Elimination of Potyvirus and Carlavirus from infected shallot bulbs. *J Appl Hort.* 21(1):42–46. DOI: <https://doi.org/10.37855/jah.2019.v21i01.07>.
- Rout GR, Mohanpatra A, Jain MS. 2006. Tissue culture of ornamental pot plant: A critical review on present scenario and future prospect. *Biotechnol Adv.* 24(6):531–560. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2006.05.001>.
- Saputri AS, Tondok EF, Hidayat SH. 2018. Insidensi virus dan cendawan pada biji dan umbi bawang merah. *J Fitopatol Indones.* 14(6):222–228. DOI: <https://doi.org/10.14692/jfi.14.6.222>.
- Wang Q, Cuellar WJ, Rajamäki M, Hirata Y, Valkonen JPT. 2008. Combined thermotherapy and cryotherapy for efficient virus eradication: relation of virus distribution, subcellular changes, cell survival and viral RNA degradation in shoot tips. *Mol Plant Pathol.* 9(2):237–250. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2007.00456.x>.
- Wulandari AW, Hidayat SH, Sobir. 2015. Deteksi virus pada bawang merah (*Allium cepa* var. *ascalonicum*) dengan metode *dot immuno binding assay*. *J Hort.* 25(4): 350–356. DOI: <https://doi.org/10.21082/jhort.v25n4.2015.p350-356>.