

ELIMINASI PENYAKIT VIRUS PADA BAWANG PUTIH (*ALLIUM SATIVUM*) MELALUI PENDEKATAN IN KONVENSIIONAL TEKNIK KULTUR JARINGAN

A.K. Karjadi dan Gunaeni N

Balai Penelitian Tanaman Sayuran

Jl. Tangkuban Perahu No. 517 Lembang – Bandung Barat

Email : asihkk @ yahoo.com

ABSTRAK

Tanaman bawang putih (*Allium sativum*), termasuk dalam keluarga *Allium* yang diperbanyak secara vegetatif. Eliminasi penyakit virus pada bawang putih dilakukan untuk meningkatkan kualitas / mutu terutama mutu benih, yang dilakukan dengan mengeliminasi virus-virus penting dari umbi bawang terinfeksi OYDV, SYSV dengan menanam jaringan meristematis dikombinasikan dengan penggunaan antiviral Ribavirin. Penelitian dilaksanakan di laboratorium kultur jaringan Balitsa pada bulan April sampai dengan Agustus 2013. Sebagai bahan explants menggunakan cv. Lumbu Hijau yang terinfeksi virus hasil uji dengan teknik Serologi DAS ELISA. Penanaman jaringan meristematis pada media MS (1962) ditambah supplement sucrose 30 g/l + myo inositol 100 mg/l + CaP 2 g/l + NAA 0.15 mg/l + Kinetin 2 mg/l + GA₃ 0.1 mg/l + agar 6.5 g/l, pH 5.7). Adapun perlakuan Anti viral Ribavirin (0;5;10;15; 20;30 mg/l) dan ukuran dari explants a. (jaringan meristem : 0.5 mm); b. (shoot tip: 2.5 mm). Rancangan yang dipergunakan RAK dengan 10 ulangan. Dari hasil penelitian didapatkan pengamatan secara visual terlihat peningkatan konsentrasi anti viral Ribavirin dan ukuran explants mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan dari explants bawang putih cv. Lumbu Hijau. Hasil analisa statistik untuk pengamatan pertumbuhan tidak terdapat interaksi antara ukuran explants dan konsentrasi antiviral Ribavirin. Dan hasil uji serologi DAS ELISA pada plantlet didapatkan semakin tinggi konsentrasi antiviral Ribavirin persentase plantlet terinfeksi virus semakin rendah.

Kata kunci : bawang putih (*Allium sativum*), antiviral Ribavirin; Meristematis, shoot tip.

ABSTRACT

Garlic (*Allium sativum*) belongs to *Allium* family are propagated vegetatively. Elimination of viral diseases in garlic is done to improve the quality / quality, especially the quality of the seed, which is done by eliminating important viruses from infected onion bulbs OYDV, SYSV by culturing the meristematic combined with the use of antiviral Ribavirin. The experiment was conducted in laboratory tissue culture Balitsa/IVEGRI in April to August 2013. As a material explants using cv. Lumbu us hijau, used were virus infected cloves determined using serology test results with DAS ELISA. Meristematic tissue were plant on MS medium (1962) + supplement sucrose 30 g / l + myo inositol 100 mg / l + CaP 2 g / l + NAA 0:15 mg / l + Kinetin 2 mg / l + GA₃ 0.1 mg / l + agar 6.5 g / l, pH 5.7). The Anti-viral treatment Ribavirin (0; 5; 10; 15; 20; 30 mg / l) and the size of the explants a. (Meristem tissue: 0.5 mm); b. (Shoot tip: 2.5 mm). The design used RCBD with 10 replications. The results of experiment on visual observation, increasing antiviral Ribavirin concentration and explants cv. Lumbu Hijau have been effected on growth and development. Some plants had reduced

virus determined by serological test DAS ELISA, the higher concentration had low percentage of infected culture

Keywords: Garlic (*Allium sativum*), antiviral Ribavirin; Meristematic, shoot tip.

PENDAHULUAN

Tanaman bawang putih (*Allium sativum* L), termasuk dalam keluarga *Allium* yang diperbanyak secara vegetative melalui umbi. Di Negara-negara maju produksi benih sudah dilakukan secara in vitro/mikropropagasi atau in konvensional baik untuk tujuan peningkatan mutu atau hanya perbanyak tanaman (Abo El-Nil, 1977; Moriconi *et al*, 1990).

Pada tanaman yang diperbanyak secara vegetative, penyakit virus merupakan salah satu penyakit penting yang perlu dipecahkan . Menurut Walkey (1987), infeksi penyakit sistemik virus ini dapat mengurangi produksi 25 – 50% jumlah siung (clove), jumlah maupun bobot umbi dapat tereduksi sampai 45%. Penyakit virus yang sudah menginfeksi akan terus berkembang secara turun temurun . Salah satu cara mengeliminasi virus pada tanaman yang diperbayak secara vegetative dengan perlakuan chemoteraphy/penambahan antiviral Ribavirin, pemanasan atau penanaman jaringan meristematik. Kombinasi teknik ini dapat meningkatkan kualitas dan kuantitas benih yang dihasilkan.

Teknik kultur jaringan semakin populer sebagai salah satu alternative propagasi tanaman yang diperbanyak secara vegetative. Teknik ini meliputi metode perbanyak asexual dengan tujuan utama untuk menghasilkan tanaman yang mempunyai sifat unggul. Kesuksesan dari perbanyak in vitro ini bergantung pada kemampuan regenerasi dalam media tumbuh aseptik dan terkendali secara in vitro.

Antiviral Ribavirin merupakan suatu bahan kimia yang dapat ditambahkan ke media tumbuh aseptik untuk menghambat perkembangan virus di jaringan tanaman.

Dalam perbanyak secara inkonvensional melalui teknik kultur jaringan dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu media tumbuh , genotype asal explants atau donor explants (Buiteveld *et al*, 1994; Eady *et al*, 1998; Zheng *et al*, 1998; Barandiara *et al*, 1999).

Penelitian bertujuan untuk melihat pengaruh dari penambahan antiviral Ribavirin dengan beberapa konsentrasi pada penumbuhan jaringan meristematik (meristem, shoot tip), untuk mengeliminasi penyakit sistemik virus. Hipotesis yang

diajukan penambahan antiviral Ribavirin dan explants meristematik akan meningkatkan persentase plantlet bebas penyakit virus.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di laboratorium kultur jaringan Balai Penelitian Tanaman Sayuran pada bulan April s.dAgustus 2013. Bahan tanaman/donor explants adalah umbi bawang putih cv. Lumbu Hijau yang telah pecah dormansi dan terinfeksi virus OYDV, SYSV hasil uji serologi DAS ELISA.

Tahapan penelitian dilakukan sebagai berikut :

1. Sterilisasi bahan explants.

Umbi/siung bawang putih dikupas dan diambil tunas yang ada didalam siung. Tunas di celupkan dalam larutan alkohol 70%, lalu direndam dilarutan chlorox 25 % selama 15 menit. Bilas dengan aquadest steril 3 – 5 kali, pindahkan ke cawan petri steril.

2. Penumbuhan explants sebelum perlakuan antiviral Ribavirin .

Explant (jaringan meristem, shoot tip) ditumbuhkan pada media MS +MS vits + gula 30 g/l + IAA 2 mg/l + Kin 2 mg/l +GA₃ 0.01 mg/l + agar 0.65%, pH 5.7 – 5.8.

Penanaman explants dilakukan di lingkungan steril Laminer airflow cabinet (LAFC), ditanam/diinokulasi pada test tube 20 x 150 mm dengan media 8 – 10 ml. Kultur diinkubasikan di ruang kultur dengan suhu 22 – 24 °C, photoperiode 16 jam terang, 8 jam gelap.

3. Perlakuan antiviral Ribavirin

Setelah explants tumbuh menjadi plantlet dengan 2 - 3 daun dipindahkan ke media perlakuan yaitu : a) Media dasar : MS +MS vits + sucrose 30 g/l + IAA 2 mg/l + Kin 2 mg/l GA₃. 0.01 mg/l + gelgro 2 g/l, pH 5.7 – 5.8. b). Konsentrasi Ribavirin (0,5,10,15,20,30 mg/l).

Setiap perlakuan ditanam 10 test tube/ tabung reaksi 25 x 200 mm dengan 10 ml media perlakuan. Pengamatan dilakukan terhadap jumlah tunas, jumlah daun , jumlah akar dan tinggi tanaman/plantlet serta visual pertumbuhan plantlet.

HASIL DAN PEMBAHSAN

Pengamatan pertumbuhan plantlet bawang putih cv.Lumbu Hijau dilakukan sampai dengan plantlet berumur 8 MST. Dimana pada saat tersebut pertumbuhan plantlet baik yang berasal dari jaringan meristem atau shoot tip sudah maximum , umumnya sudah berdaun dan berakar.

Dalam kombinasi perlakuan antiviral Ribavirin dan ukuran explants hasil analisa statistik tidak terdapat interaksi antar perlakuan ukuran explants dan konsentrasi antiviral Ribavirin. Tetapi secara visual terlihat bahwa explants yang berasal dari shoot tip pertumbuhannya lebih baik.

Pada penambahan antiviral Ribavirin di media tumbuh umumnya semakin tinggi konsentrasi antiviral Ribavirin pertumbuhan jaringan meristem dan shoot tip akan terhambat.

Tabel 1. Pengamatan rata-rata jumlah tunas dan jumlah daun explants pada umur 4 dan 8 MST.

Perlakuan	Jumlah tunas				Jumlah daun			
	4 MST		8 MST		4 MST		8 MST	
	OYDV	SYSV	OYDV	SYSV	OYDV	SYSV	OYDV	SYSV
Asal explants								
Meristem	0.20 A	0.40 A	0.50 A	0.46 A	0.70 A	1.46 A	2.73 A.	2.70 A
Shoot tip	0.26 A	0.36 A	0.43 A	0.80 A	0.93 A	1.20 A	2.70 A	3.80 A
Antiviral Ribavirin								
0 mg/l	0.30 a	0 b	0.60 a	0.60 a	1.10 a	0 c	2.50 b	3.00 b
5 mg/l	0.20 a	0.20 ab	0.50 a	0.60 a	0.80 b	1.0 b	2.51 b	2.60 b
10 mg/l	0.20 a	0.70 a	0.70 a	0.70 a	0.50 b	1.70 b	4.10 a	4.10 a
15 mg/l	0.50 a	0.60 a	0.50 a	0.90 a	2.10 a	4.0 a	3.50 a	5.90 a
20 mg/l	0 b	0.40 a	0.20 b	0.50 a	0 c	0.90 b	1.50 b	2.80 b
30 mg/l	0.20 a	0.10 b	0.40 a	0.50 a	0.40 b	2.40 b	2.30 b	1.20 c

Keterangan : Nilai rata-rata yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut uji jarak berganda Duncan Taraf 5 %.

Tabel 1, rata-rata jumlah tunas yang tumbuh kurang dari satu . Hal ini dapat diakibatkan oleh beberapa jaringan meristem /shoot tip tidak tumbuh . Keadaan fisiologis explants mempengaruhi terjadinya morfogenesis atau tidak. Dan ketidak berhasilan explants mengadakan pembelahan dan berdiferensiasi ditentukan oleh sel-sel dari explants tersebut tidak bersifat totipoten (Thomas dan Davey, 1975; Mantell *et al*, 1985). Pada bawang putih cv Lumbu Hijau , regenerasi tanaman dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti media tumbuh, genotype dan asal explants (Buitteveld *et al*, 1994; Eady *et al*, 1998; Zheng *et al*, 1998).

Pembentukan bakal tunas dari tanaman yang diperbanyak secara *in vitro* sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor (Shen *et al*, 2008) , diantaranya komposisi media tempat explants ditumbuhkan. Pada perlakuan antiviral Ribavirin terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi antiviral Ribavirin akan menghambat pertumbuhan explants.

Umumnya pertumbuhan explants shoot tip lebih baik dan cepat dari pada jaringan meristem. Sumber explants yang terinfeksi OYDV dan SYSV tidak menunjukkan perbedaan dalam pertumbuhan . Dalam tabel 1, penambahan antiviral Ribavirin rata-rata jumlah daun semakin kecil . Ada beberapa penyebabnya plantlet tidak tumbuh atau banyak kultur yang terkontaminasi bakteri dan jamur. Dari hasil ini terlihat bahwa kontaminasi merupakan kendala dalam perbanyak dengan teknik kultur jaringan (Gunawan,1988; Badoni and Charma 2010).

Tabel 2. Pengamatan rata-rata jumlah akar dan tinggi tanaman pada umur 4,8 MST.

Perlakuan	Jumlah akar				Tinggi tanaman			
	4 MST		8 MST		4 MST		8 MST	
	OYDV	SYSV	OYDV	SYSV	OYDV	SYSV	OYDV	SYSV
Asal explants								
Meristem	0	0.67 A	0.70 A	1.60 A	1.63 A	2.36 A	5.50 A	3.75 B
Shoot tip	0	0.87 A	0.37 A	2.20 A	2.50 A	1.76 A	4.73 A	6.71 A
Antiviral Ribavirin								
0 mg/l	1.50 a	0 c	1.50 a	2.80 b	2.50 a	0 c	4.05 a	5.95 b
5 mg/l	0 b	2.0 a	1.10 a	0.70 b	2.00 a	2.30 a	5.25 a	4.60 b
10 mg/l	0 b	0.60 b	1.10 a	1.90 b	1.50 b	3.90 a	8.95 a	7.05 a
15 mg/l	0 b	2.00 a	0.50 a	4.70 a	6.00 a	3.80 a	6.75 a	8.95 a
20 mg/l	0 b	0 c	0 b	0 c	0 c	1.70 b	2.20 b	3.95 b
30 mg/l	0 b	0 c	0 b	0 c	0.40 c	0.70 c	2.90 b	0.90 c

Keterangan : Nilai rata-rata yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut uji jarak berganda Duncan Taraf 5 %.

Pengamatan rata-rata jumlah akar dan tinggi tanaman pada umur plantlet 4 dan 8 MST, jumlah akar pertanaman dan tinggi plantlet semakin tinggi konsentrasi antiviral Ribavirin akan mengakibatkan rata-rata jumlah akar dan tinggi tanaman semakin rendah dan terlihat secara visual pertumbuhannya terhambat.

Keberhasilan pengembangan dan aplikasi kultur jaringan pada berbagai tanaman dengan tujuan tertentu sangat dipengaruhi oleh komposisi media kultur, tingkat kesesuaian dengan explants yang ditanam diantaranya genotype, jenis explants (George *et al*, 2008; Hamidah *et al* 1977; Khar *et al* 2005).

Tabel 3. Hasil uji serologi DAS ELISA plantlet bawang putih cv. Lumbu Hijau.

Perlakuan		Jumlah kultur		Total Kultur terinfeksi		Total kultur terinfeksi	Terinfeksi (%)
				OYDV	SYSV		
Explants	Ribavirin	tanam	Tumbuh				
Meristem	0 mg/l	10	8	3	4	7	7/8 = 87.5
	5 mg/l	10	7	3	3	6	6/7 = 85.71
	10 mg/l	10	6	2	2	4	4/6 = 66.67
	15 mg/l	10	6	2	3	5	5/6 = 83.33
	20 mg/l	10	5	2	2	4	4/5 = 80
	30 mg/l	10	4	1	2	3	3/4 = 75
Shoot tip	0 mg/l	10	9	4	3	7	7/9 = 77.78
	5 mg/l	10	8	3	3	6	6/8 = 75
	10 mg/l	10	7	3	2	5	5/7 = 71.43
	15 mg/l	10	5	2	2	4	4/5 = 80
	20 mg/l	10	4	1	2	3	3/4 = 75
	30 mg/l	10	3	1	1	2	2/3 = 66.67

Keterangan : % terinfeksi = $\frac{\text{Jml tan terinfeksi virus}}{\text{Total tanaman}} \times 100\%$.

Hasil penelitian Gunaeni *et al* (2011) melaporkan penyakit virus pada bawang di Indonesia yang terdeteksi adalah SYSV, gabungan OYDV dan SYSV. Demikian pula hasil penelitian Diekmann (1977), kelompok virus yang umum menyerang bawang-bawangan berasal dari Carla-virus, Potty – virus dan Alexi virus. Virus utama pada tanaman bawang diantaranya SLV, OYDV, SYSV dan LYSV.

Infeksi campuran beberapa virus merupakan fenomena yang sering ditemukan pada tanaman keluarga Allium . Menurut Van Dijk (1993) , infeksi virus pada bawang-bawangan (*Allium*) akan terakumulasi dari satu generasi ke generasi berikutnya. Virus yang terbawa umbi benih dapat menyebabkan pertumbuhan akan terhambat karena virus berkembang bersama dengan pertumbuhan tanaman (Sedlak *et al*, 2011; Singh *et al*, 2007).

Hasil deteksi penyakit virus pada plantlet bawang putih cv. Lumbu Hijau , persentase kultur dengan 87.5%. Dalam penelitian ini walaupun media tumbuh plantlet telah ditambahkan antiviral Ribavirin , tetapi tidak menurunkan persentase plantlet yang terinfeksi virus OYDV, SYSV. Plantlet yang terinfeksi virus masih terdeteksi hal ini mengindikasikan bahwa penambahan antiviral Ribavirin belum optimal, sehingga pada saat explants ditanam pada media regenerasi partikel virus masih terbawa (Gopal, 2011; Verma *et al* 2005; Zaitlin and Palukaitis 2000).

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian didapatkan :

- a. Hasil analisa statistik plantlet dari explants asal umbi terinfeksi OYDV, SYSV tidak berbeda nyata dan tidak terdapat interaksi antar perlakuan asal explants dan konsentrasi antiviral Ribavirin.
- b. Secara visual konsentrasi antiviral Ribavirin dan ukuran explants/asal explants berpengaruh pada rata-rata jumlah tunas, jumlah akar dan tinggi tanaman.
- c. Hasil uji serologi DAS ELISA dari plantlet bawang putih cv. Lumbu Hijau , semakin tinggi konsentrasi antiviral Ribavirin persentase plantlet terinfeksi virus semakin rendah.
- d. Konsentrasi antiviral Ribavirin pada media MS untuk menumbuhkan plantlet belum optimum dalam menurunkan persentase plantlet terinfeksi virus.

DAFTAR PUSTAKA

- Abo – E Nill, M.M. 1977. Organogenesis and embryogenesis in callus culture of garlic (*Allium sativum* L). Plant Sci. Letter. 9 ; 259 – 264.
- Buitteveld, J and Creemeer Molenaar J. 1994. Plant regeneration from protoplast isolated from suspension culture of leek (*Allium ampeloprasum* L). Plant Sci. 100 ; 2003 – 2010
- Diekmann, M. 1977. FAO/IPGRI. Technical guide lines for the germplasm movement of Allium sp. Rome (IT). Food and Agric Org of UN Rome/ Int. Plant genetic Res.Inst. Rome.
- Eady C; R.C. Bulter and Y .Suo.1998. Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature embryo culture of onion (*Allium cepa* L). Plant Cell Report 18; 111 – 116.
- George, E.F; Hall M.A and De Klerk ,G.J.2008. The component of plant tissue culture medium I, macro and micro nutrient 's (eds) George E.F.Hall, M.A and de Klerk , G.J. Plant propagation by tissue culture , the background vol I 3rd edition Springer Netherlands.
- Gopal .J. and Garg I.D. 2011. An efficient protocol of chemo-thermotherapy for elimination of potato (*Solanum tuberosum* L) viruses by meristem – tip culture. Ind. J.Agric. Sci.81; 544 – 549.
- Gunaeni N; Wulandari A.W. dan Muharam A. 2011. Insiden penyakit tular umbi pada tiga belas varietas bawang merah asal Jabar dan Jateng. J. Hort. 21 (2); 164- 172.
- Hamidah M; A.G. karim and P.C. Debergh . 1997. Somatic embryogenesis and plant regeneration Anthurium scherzerianum. Plant cell tissue and organ cult. 49; 23 – 27.
- Khar A; R.D. Bhutani; N Yadau; V.K. Chowdhury. 2005. Effect of explants and genotype on callus culture and regeneration in onion (*Allium cepa* L) . Akdeniz Univ.Ziraat Fak. Dergisi . 18 (3); 397 – 401

- Mantell , S.H. et al 1985. Principles of plant biotech. Blank. Well. Sci. Pub. Oxford.
- Moriconi, D; Conci , V.C; Nome, S.F 1990. Rapid Multiplication of Garlic (*Allium sativum* L) in vitro. Phyton 51: 145-151.
- Sedlak, J; Paprstein ,F and Talacho L; 2011. Elimination of Apple stem pitting virus from pear cultivars by in vitro chemotherapy. Acta .Hort.923; 111-115
- Shen X; M.E. J.Chen 2008. Effect of genotype explants source and plant growth regulators indirect shoot organogenesis in dieffenbachia cultivars. in vitro cell dev Biol . Plant 44; 282 – 288.
- Singh B.R; Dubey V.K and Aminuddin 2007. Inhibition of mosaic disease of Gladiolus caused by Bean Yellow mosaic and cucumber mosaic viruses by virazole. Sci. Hort. . 114 ; 54 – 58
- Thomas , E and M.R. Davey . 1975. From single cell to plants. Wykham. Pub (London) Ltd. London and Winchester.
- Van Dijk P . 1993. Carla virus isolates from cultivated *Allium* sp. Represent three viruses . Netherlands J of Plant Pathology 99 (9); 233 – 257.
- Verma N;Ram R and Zaidi A.A. 2005 . In vitro production of Prunus necrotic ring spot virus free begonias through chemo and thermotherapy. Scientia Hort. 103 ; 239 – 247.
- Walkey, D.G.A; Webb M.J.W, Bold C.J, Miller A. 1987. Production of virus free garlic (*Allium sativum* L) and Shallots (*Allium ascolonicum* L) by meristem tip culture . J, Hort. Sci. 62 ; 211 – 219
- Zaitlin M and Palukaitis . 2000. Advances in understanding plant viruses and virus diseases. Ann. Rev. Phytophatol 38 ; 117 – 143.
- Zheng, S; B. Henken; E. Sofiari; E. Jacobsen ; F.A. Krens and C. Kik, 1998. Factors influencing induction propagation and regeneration of mature zygotic embryo derived callus from *Allium cepa* . Plant Cell. Tissue and Organ Culture. 53; 99 – 105.