

Metode DAS-ELISA dan RT-PCR untuk Deteksi Potyvirus yang Menginfeksi Bawang Merah

DAS-ELISA and RT-PCR Methods for Detection of Potyviruses Infecting Shallot

Ivan Arif Rachman Martua Siregar, Sri Hendrastuti Hidayat*

Institut Pertanian Bogor, Bogor 16680

ABSTRAK

Infeksi virus pada tanaman bawang merah di Indonesia merupakan salah satu faktor yang dapat menyebabkan penurunan produktivitas tanaman, terutama karena sifatnya yang terbawa umbi. Deteksi virus untuk memantau insidensi penyakit di lapangan atau memeriksa benih sehat membutuhkan metode yang akurat dan dapat diandalkan. Pada penelitian ini dilakukan deteksi anggota *Potyvirus*, yaitu *Onion yellow dwarf virus* (OYDV) dan *Shallot yellow stripe virus* (SYSV) menggunakan metode *double antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay* (DAS-ELISA) dan *reverse transcription polymerase chain reaction* (RT-PCR) dari sampel daun bawang merah. Sampel daun dikumpulkan dari beberapa daerah penanaman bawang merah di Brebes dan Cirebon. Infeksi OYDV dan SYSV dideteksi menggunakan metode DAS-ELISA, selanjutnya sampel lapangan yang memberikan reaksi positif dipilih untuk deteksi lebih lanjut menggunakan metode RT-PCR dan peruntutan asam nukleat dengan sikuenjing. Berdasarkan metode DAS-ELISA, infeksi OYDV dan SYSV berhasil dideteksi dari sampel lapangan sebagai infeksi tunggal dan infeksi campuran. Infeksi *Potyvirus* terkonfirmasi dengan metode RT-PCR dari sampel lapangan yang memberikan reaksi positif dalam ELISA. Analisis sikuen nukleotida menunjukkan infeksi OYDV baik pada sampel yang bereaksi positif dengan antiserum OYDV maupun SYSV. Hasil tersebut mengindikasikan terjadinya reaksi silang antara antiserum OYDV dan SYSV.

Kata kunci: analisis sikuen, *Onion yellow dwarf virus*, reaksi silang, *Shallot yellow stripe virus*

ABSTRACT

Viral infection of shallots in Indonesia may reduce yields, mainly because it is bulb-borne. Virus detection to monitor the incidence of disease in the field or examine healthy seeds requires an accurate and reliable method. In this study, the detection of *Potyvirus* members, i.e., *Onion yellow dwarf virus* (OYDV) and *Shallot yellow stripe virus* (SYSV), was conducted using enzyme-linked immunosorbent assay (DAS-ELISA) and reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) from shallot leaf samples. Leaf samples were collected from several shallot growing areas in Brebes and Cirebon. Infections of OYDV and SYSV were detected using the DAS-ELISA method, then field samples that gave positive reaction were selected for further detection using the RT-PCR method, followed by nucleotide sequencing. Based on the DAS-ELISA method, OYDV and SYSV infections were detected from field samples as single and mixed infections. *Potyvirus* infection was confirmed by the RT-PCR method from field samples that gave a positive reaction in ELISA. Nucleotide sequence analysis showed that OYDV infection was detected in both samples that reacted positively with OYDV and SYSV antiserum. These results indicated the cross-reaction between OYDV and SYSV antisera.

Key words: cross-reaction, *Onion yellow dwarf virus*, RT-PCR, sequence analysis, *Shallot yellow stripe virus*

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

PENDAHULUAN

Bawang merah (*Allium cepa* var. *aggregatum*) merupakan komoditas sayuran yang memiliki arti penting bagi masyarakat karena tinggi nilai ekonomisnya dan kaya kandungan gizinya. Meskipun iklim, musim, dan lahan di Indonesia mendukung budi daya tanaman tersebut, namun produktivitas bawang merah di Indonesia belum optimal. Daerah Brebes di Jawa Tengah dan Cirebon di Jawa Barat merupakan salah satu sentra produksi bawang merah. Salah satu faktor pembatas produktivitas bawang merah di Brebes dan Cirebon ialah faktor budi daya tanaman dan gangguan hama serta penyakit tanaman.

Infeksi *Potyvirus* (OYDV/*Onion yellow dwarf virus*, SYSV/*Shallot yellow stripe virus*, dan LYSV/*Leek yellow stripe virus*) dan *Carlavirus* (SLV/*Shallot latent virus*, dan GarCLV/*Garlic common latent virus*) pada bawang merah yang ditanam di berbagai wilayah sentra produksi di Indonesia dilaporkan cukup tinggi (Kadwati dan Hidayat 2015; Gunaeni *et al.* 2018; Saputri *et al.* 2018). Lebih lanjut, Harti *et al.* (2020), Saputri *et al.* (2018) dan Wulandari *et al.* (2015; 2021) menunjukkan bahwa virus-virus utama pada bawang merah tersebut bersifat tular umbi. Pemantauan virus-virus yang bersifat tular benih perlu dilakukan secara dini dan berkelanjutan untuk mencegah keberadaan sumber inokulum penyakit di awal pertumbuhan tanaman. Oleh karena itu, upaya mendeteksi infeksi virus memiliki peran yang penting.

Metode serologi, terutama *dot immunobinding assay* (DIBA) dan *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) serta metode molekuler *Reverse transcription-polymerase chain reaction* (RT-PCR) merupakan metode yang umum digunakan dalam pengujian laboratorium untuk mendeteksi virus pada bawang merah (Fajardo *et al.* 2001; Kumar *et al.* 2001). Metode serologi memiliki kelebihan tersendiri dalam hal kesederhanaan protokol dan kemampuan

untuk digunakan dalam pengujian dengan jumlah sampel yang besar. Meskipun demikian, metode ini dilaporkan memiliki sensitivitas yang lebih rendah dibandingkan dengan RT-PCR (Dovas *et al.* 2001) dan kemungkinan terjadinya reaksi silang terhadap jenis-jenis virus dalam satu famili. Menurut Putri dan Hidayat (2019) metode RT-PCR memiliki sensitivitas, tingkat akurasi dan spesifikasi yang lebih tinggi dibandingkan metode DIBA dan ELISA dalam mendeteksi virus-virus utama yang menginfeksi kelompok *Allium* spp. Pada makalah ini dibahas hasil deteksi *Potyvirus* dari sampel daun bawang merah menggunakan metode DAS-ELISA dan RT-PCR yang dilanjutkan dengan sikuensing.

BAHAN DAN METODE

Pengambilan Sampel Lapangan

Sampel daun bawang merah diambil dari pertanaman bawang merah di Kabupaten Brebes dan Cirebon pada bulan Oktober sampai Desember 2016. Lokasi pengambilan sampel di Kabupaten Brebes yaitu Desa Brebes (Kecamatan Brebes), Desa Siasem dan Desa Wanasari (Kecamatan Wanasari), Desa Kemukten dan Desa Kersana (Kecamatan Kersana); sedangkan di Kabupaten Cirebon yaitu Desa Kalirahayu dan Desa Kalisari (Kecamatan Losari), Desa Tersana (Kecamatan Pabedilan), Desa Gebang Mekar dan Desa Melakasari (Kecamatan Gebong). Sampel daun bawang merah diambil sebanyak 100 daun dari tiap desa, yaitu berasal dari 10 bedeng tanaman yang masing-masing diambil 10 daun. Daun yang diambil merupakan daun yang berada di bagian tengah rumpun, sehingga pengambilan setiap daun berasal dari rumpun yang berbeda dan tidak berdasarkan gejala penyakit yang terlihat.

Sampel daun dari lapangan ditimbang sebanyak 0.1 g daun untuk masing-masing nomor sampel, kemudian dimasukkan ke dalam kantong plastik. Sampel selanjutnya disimpan dalam lemari pendingin dengan suhu -80 °C sebelum digunakan untuk deteksi virus.

Deteksi OYDV dan SYSV dengan metode ELISA

Pengujian dilakukan berdasarkan panduan kit, yaitu dengan metode DAS- ELISA (DSMZ, Jerman). Penentuan reaksi ELISA dilakukan secara kualitatif berdasarkan perubahan warna cairan pada masing-masing sumuran; selanjutnya hasil ELISA dianalisis secara kuantitatif menggunakan spektrofotometer (ELISA reader) pada panjang gelombang 405 nm. Reaksi ELISA dinyatakan positif jika nilai absorbansi sampel yang diuji lebih besar atau sama dengan 2 kali nilai absorbansi sampel kontrol negatif. Data hasil ELISA yang diperoleh digunakan untuk menentukan insidensi penyakit dengan menghitung persentase infeksi virus, yaitu rasio jumlah sampel positif ELISA dengan jumlah total sampel yang diuji dikali 100%. Sampel yang dinyatakan positif selanjutnya digunakan untuk konfirmasi melalui metode RT-PCR.

Deteksi Virus dengan Metode RT-PCR

Tahapan metode RT-PCR meliputi tahapan ekstraksi RNA total, dilanjutkan dengan tahap sintesis *complementary* DNA (cDNA), amplifikasi target DNA, dan visualisasi hasil amplifikasi. Ekstraksi RNA total dilakukan secara manual mengikuti metode *cethyl trimethyl ammonium bromide* (CTAB) (Doyle dan Doyle 1990). Produk ekstraksi RNA total digunakan sebagai *template* untuk sintesis cDNA. Reaksi transkripsi balik (10 µL) terdiri atas 3.70 µL *water free nuclease* (ddH₂O), 2.00 µL bufer RT 5× (Thermo Scientific™, US), 0.50 µL 10 mM dNTP (*deoksiribonukleotida triphosphat*) (Thermo Scientific™, US), 0.35 µL *RNAse Inhibitor* (Ribolock- Thermo Scientific™, US), 0.35 µL *MmULV reverse transcriptase* (Revertaid- Thermo Scientific™, US), 0.35 µL 50 mM DTT (*dithiothreitol*) (Thermo Scientific™, US), 0.75 µL Primer Poty-R dan 2 µL RNA total. Reaksi transkripsi balik dilakukan menggunakan *thermal cycler* (Gene Amp PCR System 9700) dengan kondisi yang telah diatur sebagai berikut: 25 °C selama 5 menit, 37 °C selama 90 menit, dan 70 °C selama 15 menit.

Amplifikasi cDNA dilakukan menggunakan pasangan primer *universal Potyvirus* Poty-F (5'-AAT TCA TGR TIT GGT GYA TIG AAA YGG-3') dan Poty-R (5'-ATC CCG GGT TTT TTT TTT TTT TTTT-3') yang mengamplifikasi daerah selubung protein dengan target produk berukuran 690 pb (Langeveld *et al.* 1991). Reaksi amplifikasi dibuat dengan total volume 25 µL yang terdiri atas 9.50 µL air bebas nuklease (ddH₂O), 12.50 µL Green Taq Green PCR Master mix (Thermo Scientific™, US), masing-masing 1.00 µL (10 µM) primer, dan 1.00 µL cDNA. Amplifikasi DNA didahului dengan denaturasi awal selama 5 menit pada suhu 94 °C, dilanjutkan dengan 35 siklus melalui beberapa tahapan: pemisahan utas DNA (denaturasi) pada suhu 94 °C selama 20 detik, penempelan primer pada DNA (*annealing*) pada suhu 55 °C selama 1 menit dan sintesis DNA (ekstensi) pada suhu 72 °C selama 3 menit, selanjutnya ekstensi akhir pada suhu 72 °C selama 1 menit, kemudian siklus diakhiri pada suhu 4 °C (Langeveld *et al.* 1991; Putri dan Hidayat 2020).

DNA hasil amplifikasi divisualisasi dengan elektroforesis pada tegangan 50 volt selama 50 menit menggunakan 0.5% gel agarosa dalam 1.5× *Tris-Borate* EDTA (pH 8.3). Produk hasil amplifikasi dikirimkan ke Laboratorium First BASE, Malaysia untuk dilakukan sikuensing. Data sikuen nukleotida selanjutnya dibandingkan dengan data sikuen nukleotida yang terdapat pada basis data *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) (Tabel 1) menggunakan program *basic local alignment search tool* (BLAST). Analisis filogenetika menggunakan peranti lunak ClustalX, CLC Sequence Viewer 7, dan MEGA 7.0, dengan metode *neighbor-joining algorithm* dan *bootstrap* 1000 pengulangan.

HASIL

Infeksi OYDV dan SYSV pada Bawang Merah dari Brebes dan Cirebon

Tanaman bawang merah di daerah Brebes dan Cirebon menunjukkan gejala infeksi virus

berupa mosaik kuning, mosaik hijau muda, bergaris kuning, daun pipih bergaris kuning pucat di tengah, dan bercak kuning. Hasil deteksi dengan metode ELISA menunjukkan rata-rata infeksi virus pada sampel daun bawang merah dari Brebes dan Cirebon berkisar antara 16% sampai 98% (Tabel 2). Insidensi SYSV ditemukan di semua lokasi pengambilan sampel di Brebes dan Cirebon, sedangkan insidensi OYDV hanya ditemukan di beberapa lokasi pengambilan sampel, yaitu dua desa di Kabupaten Brebes (Desa Wanasari dan Desa Brebes) dan tiga desa di Kabupaten Cirebon (Desa Melakasari, Desa Kalirahayu dan Desa Tersana). Infeksi campuran OYDV dan SYSV ditemukan di pertanaman bawang

merah di Cirebon dan Brebes, walaupun insidensinya lebih rendah dibandingkan dengan infeksi tunggal masing-masing virus.

Identifikasi Virus berdasarkan Analisis Sikuen Nukleotida

Metode RT-PCR dengan primer universal CP *Potyvirus* dapat mengamplifikasi pita DNA dengan ukuran berkisar 600 sampai 750 pb (Gambar 1). Fragmen DNA spesifik *Potyvirus* yang berhasil diamplifikasi mengonfirmasi hasil ELISA bahwa infeksi *Potyvirus* ditemukan pada tanaman bawang merah di Brebes dan Cirebon. Di antara 7 sampel positif OYDV hanya 5 sampel yang berhasil diamplifikasi dengan kualitas pita

Tabel 1 Isolat OYDV dari Genbank yang digunakan untuk analisis sikuen nukleotida

Isolat	Asal (Daerah:Negara)	No. akses Genbank
OYDV-Bantul13	Bantul: Indonesia	KU204909.1
OYDV-Shimonitanegi	Shimonitanegi: Jepang	AB000473.1
OYDV-Jinxiang	Shandong: China	AJ409311.1
OYDV-Delhi	Delhi: India	DQ519034.1
OYDV-Ec25	Karaj: Iran	GU295149.1
OYDV-Egyptian	Kairo: Mesir	HM473189.1
OYDV- Ac41	Wageningen: Belanda	Y11826.1
607-OYDV3	California: Amerika	GQ475358.1
OYDV-72	Lodz: Polandia	KF862684.1
OYDV-G _{BR}	Brasilia: Brazil	AF228414.1
PBRV-PRI-EC	Skotlandia: UK	NC022798.1

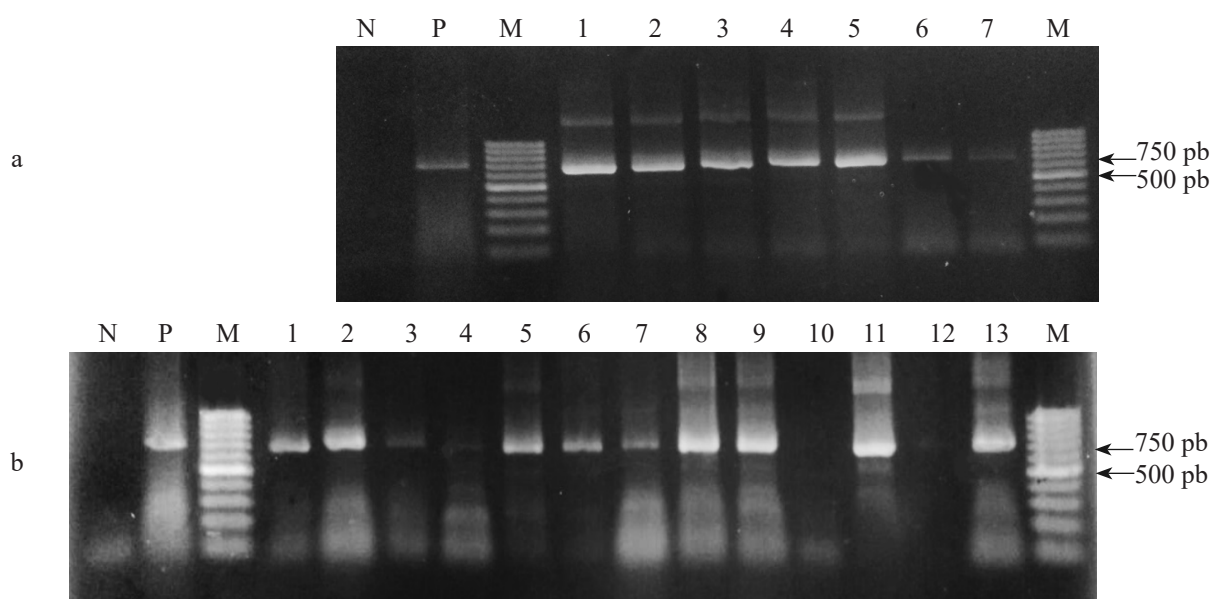
Tabel 2 Frekuensi infeksi OYDV dan SYSV pada sampel daun bawang merah dari Kabupaten Brebes dan Cirebon berdasarkan hasil deteksi menggunakan metode DAS-ELISA

Daerah asal sampel (Desa, Kecamatan)	Jumlah sampel terinfeksi/Jumlah sampel yang diuji (%)		
	OYDV	SYSV	OYDV dan SYSV
Kabupaten Brebes			
Kemukten, Kersana	0/10 (0)	9/10 (90)	0/10 (0)
Kersana, Kersana	0/10 (0)	10/10 (100)	0/10 (0)
Siasem, Wanasari	0/10 (0)	10/10 (100)	0/10 (0)
Wanasari, Wanasari	4/10 (40)	10/10 (100)	4/10 (40)
Brebes, Brebes	4/10 (40)	10/10 (100)	4/10 (40)
Total infeksi di Brebes	8/50 (16)	49/50 (98)	8/50 (16)
Kabupaten Cirebon			
Gebang Mekar, Gebang	0/10 (0)	4/10 (40)	0/10 (0)
Melakasari, Gebang	10/10 (100)	6/10 (60)	6/10 (60)
Kalisari, Losari	0/10 (0)	8/10 (80)	0/10 (0)
Kalirahayu, Losari	2/10 (20)	10/10 (100)	2/10 (20)
Tersana, Pabedilan	3/10 (30)	7/10 (70)	2/10 (20)
Total infeksi di Cirebon	15/50 (30)	35/50 (70)	10/50 (20)

DNA yang baik (Gambar 1a); sedangkan untuk sampel positif SYSV diperoleh 9 sampel dari 13 sampel yang berhasil diamplifikasi dengan kualitas pita DNA yang baik (Gambar 1b). Dari 14 sampel fragmen DNA Potyvirus yang diperoleh, sebanyak 6 sampel dipilih untuk proses sikuensing. Sampel tersebut ialah 4 sampel terdeteksi positif OYDV dan 2 sampel terdeteksi positif SYSV. Panjang sikuen yang diperoleh berkisar antara 697 pb sampai 756 pb (Tabel 3). Berdasarkan analisis BioEdit terdapat 4 isolat memiliki sikuen-

sikuen dengan persentase kesamaan yang tinggi (91% sampai 99%) dengan beberapa sikuen OYDV yang ada di GenBank (Tabel 4); sedangkan sikuen isolat Melakasari dan isolat Siasem tidak dapat terbaca dengan baik.

Deteksi virus menggunakan metode RT-PCR yang dilanjutkan dengan sikuensing ternyata memberikan hasil yang berbeda dengan hasil deteksi menggunakan metode ELISA. Hasil sikuensing menunjukkan infeksi OYDV baik pada sampel yang bereaksi positif dengan antiserum OYDV maupun SYSV. Hasil



Gambar 1 Amplifikasi DNA *Potyvirus* dari tanaman bawang merah menggunakan primer universal *Potyvirus*. a, Sampel positif OYDV berdasarkan deteksi ELISA, berasal dari Desa Wanasari (1), Desa Brebes (2) dan (3), Desa Melaksari (4), Desa Tersana (5-7); dan b, Sampel positif SYSV berdasarkan deteksi ELISA, berasal dari Desa Kalisari (1), Desa Kalirahayu (2-4), Desa Melakasari (5), Desa Tersana (6-7), Desa Kemukten (8-9), Desa Siasem (10-11), Desa Brebes (12-13). P, Kontrol positif; N, Kontrol negatif; dan M, penanda DNA 100 pb.

Tabel 3 Panjang nukleotida hasil sikuensing isolat OYDV dan SYSV dari Kabupaten Brebes dan Cirebon

Kode isolat	Asal isolat (Desa, Kecamatan, Kabupaten)	Panjang nukleotida (pb)		
		<i>forward</i>	<i>reverse</i>	<i>contig</i>
Isolat positif OYDV berdasarkan deteksi ELISA				
Wns1	Wanasari, Wanasari, Brebes	662	660	697
Brb1	Brebes, Brebes, Brebes	660	658	690
Mls1	Melakasari, Gebang, Cirebon	577	659	664
Trn1	Tersana, Pabedilan, Cirebon	692	671	741
Isolat positif SYSV berdasarkan deteksi ELISA				
Ssm1	Siasem, Wanasari, Brebes	678	655	707
Trn2	Tersana, Pabedilan, Cirebon	716	665	756

Tabel 4 Hasil Blast empat isolat virus asal bawang merah dari Kabupaten Brebes dan Cirebon

No akses Genbank*	Wns1		Brb1		Trn1		Trn2	
	Qc	Idn	Qc	Idn	Qc	Idn	Qc	Idn
KU204909.1	94	99	94	97	90	97	86	98
AB000473.1	95	95	94	94	90	94	86	94
AB693978.1	95	94	94	93	90	93	86	93
Y11748.1	96	94	97	92	92	92	87	92
AB000472.1	95	94	92	94	90	93	86	92
D73378.1	95	94	94	93	90	92	86	92
AB000474.1	95	94	94	92	90	92	86	92
JX461342.1	95	92	86	91	90	91	86	91
DQ925457.1	94	92	91	91	90	91	86	91
AB669435.1	95	92	91	92	90	91	86	91

Keterangan: QC, *Query cover*; Idn, % *Identity*

*Identitas virus diuraikan pada Tabel 1

tersebut mengindikasikan terjadinya reaksi silang antara antiserum OYDV dan SYSV.

PEMBAHASAN

Infeksi OYDV dan SYSV pada pertanaman bawang merah di Brebes dan Cirebon telah dilaporkan sebelumnya. Kadwati dan Hidayat (2015) menyimpulkan bahwa *Potyvirus* yang menginfeksi secara tunggal maupun bersama dengan virus lain merupakan insidensi yang dominan pada umbi bawang merah asal Kabupaten Bandung, Brebes dan Cirebon. Selanjutnya, Wulandari *et al.* (2015) melaporkan infeksi OYDV pada kultivar Bima Brebes asal Cirebon dan Brebes berturut-turut 60% dan 27%. Infeksi OYDV dan SYSV selalu ditemukan di Brebes dan Cirebon sebab petani di dua daerah tersebut menanam bawang merah kultivar Bima Brebes secara terus menerus (Basuki dan Kurniawan 2009). Mengingat OYDV dan SYSV bersifat tular umbi, maka penggunaan kultivar Bima Brebes secara terus-menerus menyebabkan akumulasi virus pada umbi dari generasi ke generasi berikutnya.

Infeksi virus sangat memengaruhi kualitas dan kuantitas produk pertanian di seluruh dunia, termasuk virus yang menginfeksi bawang merah. Untuk alasan ini, pengembangan dan adaptasi teknik yang efisien dan cepat untuk diagnosis dan pengendalian virus tanaman merupakan kebutuhan yang

penting dan relevan. Pengendalian penyakit tanaman—termasuk yang disebabkan oleh virus—tanpa informasi yang cukup tentang agens penyebabnya, penyebarannya dan sifat-sifatnya untuk bertahan hidup, biasanya menghasilkan strategi pengendalian yang kurang tepat. Oleh karena itu, setiap upaya untuk menyusun program pengendalian penyakit tanaman harus didahului oleh diagnosis laboratorium yang benar dan tepat.

Metode serologi—ELISA, *dot immuno binding assay* (DIBA) dan *tissue blot immuno assay* (TBIA)—merupakan metode diagnosis yang sering digunakan untuk virus tanaman. Secara umum metode serologi melibatkan reaksi antibodi antigen secara *in vitro*, dengan prosedur yang sederhana dan tidak memerlukan peralatan canggih dan mahal (Lima *et al.* 2012). Perbandingan antara metode serologi yang berbeda ditunjukkan oleh banyak peneliti. Dilaporkan bahwa DIBA 8 kali lebih sensitif untuk mendeteksi *Potato virus X (Potyvirus)* dan 4 kali lebih sensitif untuk mendeteksi *Potato virus S (Carlavirus)* dan *Potato virus Y (Potyvirus)* daripada DAS-ELISA (Abd El-Aziz 2019). Hal tersebut menunjukkan pentingnya melakukan optimasi dan validasi metode diagnosis untuk kelompok atau spesies virus tertentu.

Salah satu keterbatasan dalam metode serologi sebagai metode identifikasi dan deteksi virus tanaman ialah kesulitan dalam menghasilkan antiserum dengan spesifisitas

yang baik. Produksi antiserum beberapa virus tanaman dibatasi oleh kesulitan memurnikan virus dari kontaminan protein nabati dan memperoleh konsentrasi yang tepat untuk digunakan sebagai antigen (Abraham *et al.* 2019). Selain itu tanaman seringkali diinfeksi oleh lebih dari satu spesies virus, sehingga sulit memisahkan virus-virus tersebut pada tahap pemurnian virus. Spesifisitas antiserum yang kurang baik dapat menyebabkan reaksi silang, yaitu reaksi positif terjadi pada beberapa spesies virus yang berkerabat dekat. Pengujian beberapa antiserum terhadap anggota *Potyviridae* menunjukkan bahwa pilihan metode serologi yang tepat dan hubungan kekerabatan antara anggota dalam famili yang sama menentukan hasil deteksi (Richter *et al.* 1994). Abouzid *et al.* (2002) melaporkan antiserum poliklonal yang diproduksi untuk mendeteksi *Begomovirus* memberikan reaksi silang terhadap *Bean golden mosaic virus* isolat Brazil (BGMV), *Cabbage leaf curl virus* (CabLCV), *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV), dan *Tomato mottle virus* (ToMoV). Deteksi OYDV dan SYSV dari sampel tanaman bawang merah mengindikasikan adanya reaksi silang antara kedua antiserum yang digunakan berdasarkan konfirmasi yang dilakukan melalui metode PCR dan analisis sekuen nukleotida.

Penelitian ini mengonfirmasi bahwa infeksi virus pada tanaman bawang merah di Brebes dan Cirebon tergolong tinggi. Metode deteksi serologi menggunakan antibodi spesifik OYDV dan SYSV memberikan hasil yang berbeda dengan deteksi menggunakan metode RT-PCR. Pemilihan metode deteksi yang tepat dan akurat diperlukan untuk pemantauan penyebaran penyakit dan program sertifikasi benih sehat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan bagian dari kerjasama penelitian Fakultas Pertanian, IPB dengan Department of Agriculture and Fisheries, Queensland Government, Australia melalui ACIAR Project (SMCN-2009-056).

DAFTAR PUSTAKA

- Abd El-Aziz MH. 2019. Three modern serological methods to detect plant viruses. *Journal of Plant Science and Phytopathology*. 3(3):101–106. DOI: <https://doi.org/10.29328/journal.jpsp.1001039>.
- Abouzid AM, Freitas-Astua J, Purcifull DE, Polston JE, Beckham KA, Crawford WE, Petersen MA, Peyser B, Patte C, Hiebert E. 2002. Serological studies using polyclonal antisera prepared against the viral coat protein of four Begomoviruses expressed in *Escherichia coli*. *Plant Disease*. 86:1109–1114. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS.2002.86.10.1109>.
- Abraham AD, Kidanemariam DB, Holton TA. 2019. Molecular identification, incidence and phylogenetic analysis of seven viruses infecting garlic in Ethiopia. *European Journal of Plant Pathology*. 155:181–191. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10658-019-01760-9>.
- Basuki K, Kurniawan RS. 2009. Uji adaptasi lima varietas bawang merah asal dataran tinggi dan medium pada ekosistem dataran rendah Brebes. *Jurnal Hortikultura*. 19(3):281–286.
- Dovas CI, Hatziloukas E, Salomon R, Barg E, Shibolet Y, Katis NI. 2001. Comparison of methods for virus detection in *Allium* spp. *Journal of Phytopathology*. 149(11): 731–737. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1439-0434.2001.00705.x>.
- Doyle JJ, Doyle JL. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*. 12:13–15. DOI: <https://doi.org/10.2307/2419362>.
- Fajardo TVM, Nishijima M, Buso JA, Torres AC, Avila AC, Resende RO. 2001. Garlic viral complex: Identification of Potyviruses and Carlaviruses in Central Brazil. *Fitopatologia Brasileira*. 26(3):619–626. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-41582001000300007>.
- Gunaeni N, Karyadi AK, Adiyoga W. 2018. Deteksi penyakit virus pada bawang merah asal kabupaten Brebes dan Cirebon dan daerah pencarnya menggunakan teknik

- RT-PCR. Jurnal Hortikultura. 28(2):229–238. DOI: <https://doi.org/10.21082/jhort.v28n2.2018.p229-238>.
- Harti H, Hidayat SH, Sobir, Wiyono S. 2020. Detection of major viruses infecting shallot and molecular characterization of *Onion yellow dwarf virus* from several locations in Indonesia. Biodiversitas. 21(4):1697–1701. DOI: <https://doi.org/10.13057/biodiv/d210451>.
- Kadwati, Hidayat SH. 2015. Deteksi virus utama bawang merah dan bawang putih dari daerah Jawa Barat dan Jawa Tengah. Jurnal Fitopatologi Indonesia. 11(4):121–127. DOI: <https://doi.org/10.14692/jfi.11.4.121>.
- Kumar S, Baranwal VK, Joshi S, Arya M, Majumder S. 2010. Simultaneous detection of mixed infection of *Onion yellow dwarf virus* and an *Allexivirus* in RT-PCR for ensuring virus free onion bulbs. Indian Journal of Virology 21(1):64–68. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13337-010-0008-x>.
- Langeveld SA, Dore JM, Memelink J, Derks AFLM, van der Vlugt CIM, Asjes CJ, BOI JF. 1991. Identification of potyviruses using the polymerase chain reaction with degenerate primers. Journal of General Virology. 72(7):1531–1541. DOI: <https://doi.org/10.1099/0022-1317-72-7-1531>.
- Lima JAA, Nascimento AKQ, Radaelli P, Purcifull DE. 2012. Serology Applied to Plant Virology. Di dalam: Al-Moslih M, editor. *Serological diagnosis of certain human, animal and plant diseases*. Rijeka (HR): InTech. 21(1):71–94.
- Putri CA, Hidayat SH. 2020. Sensitivity of serological and polymerase chain reaction methods for detection of viruses in *Allium* spp. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 468(1):1–9. DOI: <https://doi.org/10.1088/1755-1315/468/1/012023>.
- Richter J, Proll E, Rabenstein F, Stanarius A. 1994. Serological detection of members of the Potyviridae with polyclonal antisera. Journal of Phytopathology. 142(1):11–18. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.1994.tb00002.x>.
- Saputri AS, Tondok ET, Hidayat SH. 2018. Insidensi virus dan cendawan pada biji dan umbi bawang merah. Jurnal Fitopatologi Indonesia. 14(6):222–228. DOI: <https://doi.org/10.14692/jfi.14.6.222>.
- Wulandari AW, Hidayat SH, Sobir. 2016. Deteksi virus pada bawang merah (*Allium cepa* var. *ascalonicum*) dengan metode *dot immunobinding assay*. Jurnal Hortikultura. 25(4):350–356. DOI: <https://doi.org/10.21082/jhort.v25n4.2015.p350-356>.
- Wulandari AW, Sobir, Hidayat SH. 2021. Pengaruh kombinasi perlakuan air panas dan kultur jaringan terhadap infeksi virus pada bawang merah. Jurnal Fitopatologi Indonesia. 17(2):49–57. DOI: <https://doi.org/10.14692/jfi.17.2.49-57>.