

Regenerasi *In Vitro* Tanaman Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.)

¹⁾ Alfian Dwi Kurniawan dan ²⁾ Wahyu Widoretno

^{1),2)} Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang

Email : ¹⁾ alfianbio.ub10@gmail.com, ²⁾ wahyu_widoretno@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh zat pengatur tumbuh yang ditambahkan pada media terhadap induksi kalus dan regenerasi tanaman bawang merah (*Allium ascalonicum* L.) secara *in vitro*. Kalus diinduksi dari eksplan cakram /basal stem menggunakan media Murashige dan Skoog (MS) dengan penambahan 2,4-D konsentrasi 1, 2, 3 dan 4 mg/L. Kalus dikultur pada media MS dengan penambahan NAA 0,1 mg/L dan beberapa konsentrasi kinetin (2, 3 dan 5 mg/L) untuk induksi tunas. Tunas disubkultur pada media MS + IBA 2 mg/L untuk membentuk plantlet. Penambahan 2,4-D pada media kultur mampu menginduksi pembentukan kalus pada eksplan, tetapi konsentrasi 2,4-D yang tinggi pada media menghambat pembentukan dan pertumbuhan kalus serta menyebabkan terjadi pencoklatan pada eksplan. Penambahan kinetin yang dikombinasikan dengan NAA pada medium mampu menginduksi tunas bawang merah dari eksplan kalus. Peningkatan konsentrasi kinetin berpengaruh terhadap jumlah tunas yang terbentuk pada kalus. Konsentrasi kinetin 2 mg/L mampu menghasilkan tunas lebih banyak dibandingkan dengan kinetin pada konsentrasi yang lebih tinggi (3 dan 5 mg/L). Plantlet bawang merah diperoleh setelah tunas disubkultur pada media yang mengandung IBA 2mg/L, akar mulai muncul setelah 6-8 minggu kultur.

Kata kunci : 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid, *Allium ascalonicum*, kinetin, NAA, kalus, plantlet

ABSTRACT

This research objectives were to determine the effects of growth regulator in culture media to callus induction and plantlet regeneration of *Allium ascalonicum*. Induction of callus was conducted by culturing basal stem explants on Murashige and Skoog medium supplemented with different concentration of 2,4-D (1, 2, 3 and 4 mg/L). Callus explant were cultured in MS medium supplemented with 0,1 mg/L NAA and different concentration of kinetin (2, 3 and 5 mg/L) to induce shoots. Shoots were subcultured in MS medium supplemented with 2mg/L IBA. Addition 2,4-D in culture media was able to induce callus formation, but 2,4-D concentration in culture medium inhibit the growth and formation of callus and caused browning on explants. Kinetin combined with 0.1 mg / L NAA was able to induce onion shoots on callus explants. Increasing concentrations of kinetin affected the number of shoots. Media containing 2 mg/L kinetin produced more shoots than the higher concentrations (3 and 5 mg / L). Shallots plantlet were achieved after shoots were subcultured in IBA 2 mg/L medium, roots begin to appears after 6-8 weeks of culture.

Keyword : 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid, *Allium ascalonicum*, kinetin, NAA, callus, plantlet

PENDAHULUAN

Bawang merah (*Allium ascalonicum* L.) merupakan komoditas sayuran yang digunakan sebagai penyedap rasa masakan dan obat tradisional. Kebutuhan bawang merah saat ini semakin meningkat, namun produksi bawang merah di Indonesia masih kurang, sebanyak 20% dari kebutuhan bawang merah masih dipenuhi dengan impor bawang [1]. Perbanyakan bawang merah umumnya dilakukan secara konvensional dengan metode

perbanyakan vegetatif menggunakan umbi. Bibit dari umbi seringkali memiliki kelemahan yaitu adanya patogen virus yang dibawa dari induk, akumulasi patogen dari induk akan diturunkan pada setiap generasi sehingga dapat mengakibatkan menurunnya produktivitas bawang merah [2].

Teknik kultur jaringan merupakan teknik yang efisien untuk perbanyakan klonal tanaman. Teknik kultur jaringan juga memberi peluang untuk terbentuknya individu dengan

karakter unggul melalui induksi variasi somaklonal atau teknik rekayasa genetika.

Perbanyak tanaman bawang merah secara *in vitro* telah dilakukan pada *Allium cepa* dan *Allium ascalonicum* [2,3,4,5,6]. Metode regenerasi tunas pada media dengan penambahan BAP atau BAP yang dikombinasikan dengan NAA hanya menghasilkan 3-4 tunas per kalus [3]. Zat pengatur tumbuh sitokinin dalam hal ini BAP menunjukkan hasil yang kurang optimal. Penelitian oleh Khar [7] pada regenerasi tunas *Allium cepa* menggunakan zat pengatur tumbuh kinetin 2 mg/L menunjukkan hasil yang lebih baik dengan terinduksinya 5-8 tunas pada kalus, sementara penggunaan BAP menghasilkan pertumbuhan tunas yang albino dengan defisiensi klorofil. Beberapa hasil penelitian menunjukkan zat pengatur tumbuh NAA dan kinetin dapat memacu regenerasi tunas pada beberapa tanaman kultur bawang [4,5,7,8]. Oleh karena itu penggunaan kombinasi NAA+kinetin untuk regenerasi tunas bawang merah berpeluang untuk menghasilkan regenerasi secara *in vitro* bawang merah. Diperolehnya metode regenerasi bawang merah secara *in vitro* akan mendukung pengembangan tanaman bawang merah.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4-D yang tepat pada pembentukan kalus dan kombinasi NAA + kinetin untuk regenerasi tunas bawang merah secara *in vitro*.

METODE PENELITIAN

Induksi kalus. Umbi bawang merah disterilisasi dengan dicelupkan pada alkohol 70% dan dibakar pada api bunsen selama 15 detik. Umbi yang telah steril dikupas dan diambil bagian cakram/ basal stem sebagai eksplan. Eksplan cakram/basal stem dikulturkan pada media Murashige dan Skoog (MS) dengan penambahan hormon 2,4-D konsentrasi 1, 2, 3 dan 4 mg/L. Setiap perlakuan diulang 3 kali (3 botol) dan setiap botol dikultur 2 eksplan. Kultur diinkubasi selama 2 bulan dalam suhu 24-25 °C dengan pencahayaan 600 lux selama 2 bulan. Parameter pengamatan adalah pembentukan dan pertumbuhan kalus yaitu berat basah dan berat kering kalus.

Induksi tunas dan regenerasi plantlet

Eksplan kalus dikultur pada media MS + 0,1 NAA dan beberapa konsentrasi kinetin (2, 3 dan 5 mg/L) untuk menginduksi tunas. Setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali (3 botol) setiap botol dikultur sebanyak 0,1 g kalus. Kultur diinkubasi dengan intensitas cahaya 600 lux pada suhu 25-26°C selama tiga bulan sehingga dihasilkan mata-mata tunas. Mata tunas yang terbentuk disubkultur 2 kali untuk pemanjangan tunas. Pengamatan dilakukan meliputi jumlah tunas yang terbentuk pada kalus setelah kultur selama 3 bulan.

Tunas yang telah terbentuk dikultur pada media MS dengan penambahan hormon IBA 2 mg/L untuk induksi akar. Kultur diinkubasi pada suhu 25-26 °C dengan pencahayaan 600 lux selama 2 bulan hingga terbentuk plantlet bawang merah.

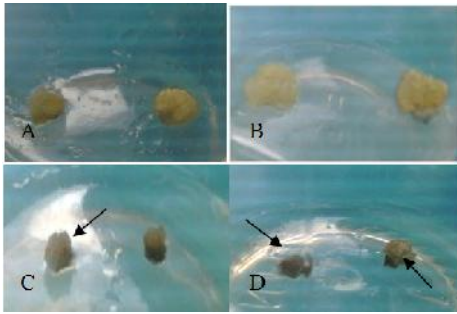
Analisis data. Data dianalisis dengan ANOVA (*Analysis of Variance*), bila terdapat perbedaan yang signifikan dilanjutkan dengan uji Duncan pada selang kepercayaan 95% (= 0.05).

HASIL DAN PEMBAHASAN

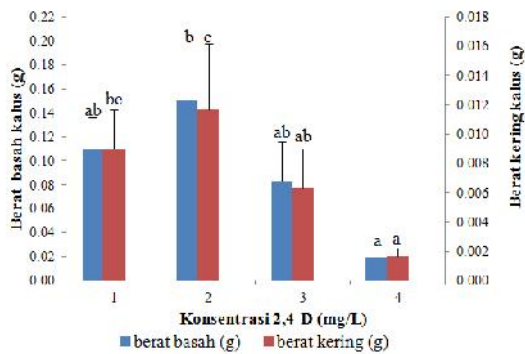
Induksi kalus. Eksplan cakram/ basal stem yang dikultur pada media dengan penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D mampu membentuk kalus mulai minggu ke 4 inkubasi. Kalus yang terbentuk berwarna putih kekuningan dan bertekstur kompak. Induksi dan pertumbuhan kalus dipengaruhi oleh konsentrasi 2,4-D. Zat pengatur tumbuh 2,4-D 2 mg/L pada media mampu menginduksi eksplan basal stem untuk membentuk kalus lebih baik dibandingkan konsentrasi 2,4-D lainnya, zat pengatur tumbuh 2,4-D dengan konsentrasi tinggi (3 dan 4 mg/L) pada media menghambat pertumbuhan kalus dan menyebabkan pencoklatan (*browning*) pada eksplan (Gambar 1 C dan D).

Penambahan 2,4-D pada media kultur dapat berpengaruh pada berat basah dan berat kering kalus. Berat basah dan berat kering kalus tertinggi terdapat pada media dengan penambahan 2,4-D 2 mg/L. Penambahan 2,4-D lebih tinggi dapat menyebabkan berat basah dan berat kering kalus semakin menurun, bahkan penurunan mencapai 86% pada pemberian 2,4-D konsentrasi 4 mg/L (Gambar 2). Demikian juga jika konsentrasi 2,4-D dalam medium rendah kurang dari 2

mg/L, pertumbuhan kalus juga belum optimum.



Gambar 1. Pertumbuhan kalus dari eksplan yang dikultur pada medium dengan konsentrasi 2,4-D yang berbeda. (A) 1 mg/L (B) 2 mg/L (C) 3 mg/L (D) 4 mg/L.



Gambar 2. Pengaruh konsentrasi 2,4-D terhadap berat basah dan berat kering kalus bawang merah. Keterangan: huruf yang sama pada setiap variabel menunjukkan tidak beda nyata pada uji Duncan ($\alpha=0.05$)

Kalus merupakan proliferasi massa sel meristematik yang belum terdiferensiasi. Kalus dapat diinduksi secara *in vitro* dengan penambahan zat pengatur tumbuh auksin atau kombinasi auksin dan sitokinin. Induksi kalus dipengaruhi oleh rasio auksin dan sitokinin yang seimbang, sehingga diperlukan kombinasi yang tepat agar dapat menginduksi pembentukan kalus yang optimal. Zat pengatur tumbuh 2,4-D berperan dalam meningkatkan aktivitas pembelahan sel pada jaringan. Penambahan 2,4-D pada media kultur dapat menginduksi terbentuknya kalus namun pada konsentrasi yang tinggi dapat menghambat pembentukan kalus dan dapat menyebabkan terjadi pencoklatan pada eksplan [9]. Penggunaan 2,4-D untuk menginduksi kalus telah dilakukan pada eksplan cakram/basal stem dan embrio *Allium cepa* [4,5,7], eksplan meristem *A.sativum* [3,9] dan eksplan daun dan biji *A.ampeloprasum* [8]. Kisaran konsentrasi 2,4-D yang mampu menginduksi

kalus pada eksplan cakram/basal stem bawang merah antara 0,5-5 mg/L, namun penambahan 2,4-D konsentrasi 5 mg/L menurunkan persentase pembentukan kalus hingga 17% [4,7].

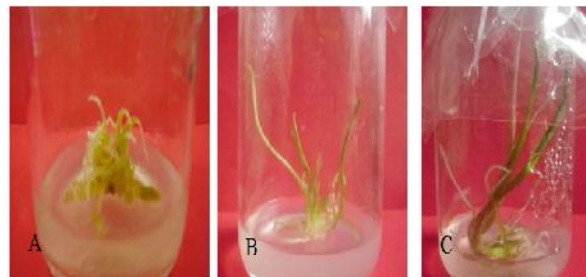
Induksi Tunas dan Regenerasi Plantlet.

Eksplan kalus yang dikultur pada media dengan penambahan NAA 0,1 mg/L dan kinetin mampu membentuk mata tunas (Gambar 3 A). Mata tunas mulai muncul pada eksplan kalus setelah 5-6 minggu kultur. Peningkatan konsentrasi kinetin berpengaruh terhadap waktu muncul dan jumlah tunas. Kinetin dengan konsentrasi tinggi 3 dan 5 mg/L menghambat terbentuknya mata tunas pada eksplan kalus.

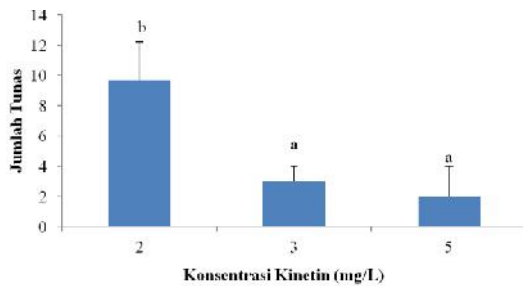
Jumlah mata tunas terbanyak terbentuk dari kalus yang dikultur pada media dengan penambahan kinetin 2 mg/L. Peningkatan konsentrasi kinetin pada media kultur menurunkan secara signifikan jumlah tunas yang terbentuk pada eksplan (Gambar 4). Mata-mata tunas yang muncul dikultur pada media NAA 0,1 mg/L + kinetin 2 mg/L untuk pemanjangan tunas (Gambar 3 B).

Tunas dipindahkan pada media yang mengandung zat pengatur tumbuh IBA 2mg/L untuk regenerasi plantlet. Tunas mampu membentuk akar pada media yang mengandung IBA 2 mg/L setelah 6-8 minggu kultur (Gambar 3 C). Penambahan IBA dengan konsentrasi 2 mg/L menunjukkan respon terbaik dalam menginduksi akar *Allium ascalonicum* L. Zat pengatur tumbuh IBA merupakan salah satu jenis auksin dan umum digunakan untuk induksi akar secara *in vitro* pada beberapa tanaman.

Gambar 3. Pembentukan tunas dan regenerasi



plantlet bawang merah (A) Muncul mata tunas (B) Pemanjangan Tunas (C) Regenerasi plantlet



Gambar 4. Pembentukan tunas pada eksplan kalus bawang merah yang dikultur pada media dengan variasi kinetin. Keterangan: huruf yang sama menunjukkan tidak beda nyata pada uji Duncan ($\alpha=0.05$)

Zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin berperan penting dalam regenerasi tanaman secara umum, auksin mampu menginduksi proliferasi dan pertumbuhan kalus, sedangkan sitokinin lebih berperan memacu regenerasi pemanjangan dan pertumbuhan tunas [3]. Regenerasi tanaman melalui eksplan kalus dipengaruhi oleh auksin dan sitokinin pada kalus yang menentukan arah diferensiasi. Kombinasi NAA dan kinetin dapat menginduksi munculnya mata tunas pada eksplan kalus tanaman *Ipomoea obscura* [10]. Peningkatan konsentrasi kinetin pada media dapat menghambat waktu muncul tunas pada eksplan kalus *Allium cepa* [4] dan tunas *Allium sativum* [11].

KESIMPULAN

Pertumbuhan kalus dan regenerasi tunas dipengaruhi oleh konsentrasi zat pengatur tumbuh dalam media kultur. Pertumbuhan kalus terbaik terdapat pada media MS dengan penambahan 2,4-D 2 mg/L. Peningkatan konsentrasi 2,4-D yang tinggi menyebabkan pencoklatan/browning pada eksplan. Regenerasi tunas terbaik dihasilkan pada media dengan kombinasi zat pengatur tumbuh NAA 0,1 mg/L + kinetin 2 mg/L. Peningkatan konsentrasi kinetin menurunkan jumlah tunas yang terbentuk pada kalus.

DAFTAR PUSTAKA

[1] Suhendra. 2014. Ini Alasan Indonesia Harus Tetap Impor Bawang Merah. <http://finance.detik.com/read/2014/05/06/134735/2574622/4/ini-alasan-indonesia-harus-tetap-impor-bawang-merah>

[2] Budiyo, J.P. 2012. Multiplikasi *In vitro* Tunas Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.) pada Berbagai Taraf

Konsentrasi Air Kelapa. *Jurnal Agronomi* 8(2):75-80

[3] Dixit, V., S. P. Rai & B. R. Chaudary. 2013. *Allium sativum*: Four-Step Approach to Efficient Micropropagation. *Int. J. Innov. Biol. Res.* 2(1): 6-14.

[4] Hailekidan, B., M. Andargie. & K. Assefa. 2013. *In vitro* Plantlet Regeneration from the Bulbs of Shallot (*Allium cepa* Var. Group *Aggregatum*). *Research in Plant Sciences* 1 (2): 45-52

[5] Marinangeli, P., D. Zappacosta, C. Galmarini & N. Curvetto. 2005. Callus Induction and Plant Regeneration in Onion (*Allium cepa* L.). *Acta Hort.* 688 :301-308

[6] Hidayat, I.M. 2005. *In vitro* Plant Regeneration and Bulbet Formation of Shallots (*Allium ascalonicum* L.). *Acta Hort.* 688:251-258

[7] Khar, A., B. Ramdhan., Y. Neelam. & V.K. Chowdhury. 2005. Effect of explant and genotype on callus culture and Regeneration in onion (*Allium cepa* L.). *Akdeniz üniversitesi ziraat fakültesi dergisi* 18(3): 397-404

[8] Monemi, M. B., S. K. Kazemitabar, G. B. Khaniki, E. Yasari, F. Sohrevardi & R. Pourbagher. 2014. Tissue Culture Study of the Medicinal Plant Leek (*Allium ampeloprasum* L.). *IJMCM.* 3(2):1-8

[9] Salam, M. A., M. R. Ali, Md. E. Ali, K. A. Alam, M. S. H. Reza, S. Salam & S.M. M. Rahman. 2008. Callus Induction and Regeneration of Indigenous Garlic (*Allium sativum* L.). *Am. J. Plant Physiol* 3(1): 33-39

[10] Mungole, A., R. Awati., S. Dey., A. Chaturvedi. & P. Zanwar. 2009. In-vitro callus induction and shoot regeneration in *Ipomoea obscura* (L.): potent Indian medicinal plant. *Indian Journal of Science and Technology* 2(8): 24-26

[11] Gull, I., N. Asma., A. Shahbaz., A. Amin. 2014. Comparative effect of different phytohormones on the micropropagation of *Allium sativum*. *Pak. J. Biochem. Mol. Biol* 47(1-2): 121-124.