



## I PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Bawang merah merupakan komoditas sayuran penting dengan ploidi  $2n=2x=16$  yang banyak dibudidayakan dan dikonsumsi di Indonesia. Luas lahan panen dan produksi bawang merah semakin meningkat dari tahun ke tahun. Peningkatan dari 2016 ke 2017 sebesar 22,5%, dari 149 635 ha, menjadi 158 172 ha, sedangkan produksi meningkat 1,7% sebesar 14 468 602 kw menjadi 14 701 546 kw (Kementerian Pertanian Republik Indonesia 2018). Peningkatan produksi dilakukan untuk memenuhi target ekspor bawang merah segar ke negara-negara tetangga seperti Singapura, Malaysia, Thailand dan Vietnam dari tahun 2017 dengan ekspor sebesar 7 750 ton menjadi 15 ribu ton di tahun 2018. Syarat ekspor bawang merah segar yang harus dipenuhi meliputi ukuran berkisar sedang hingga besar, warna merah cerah, kadar air sedang, dan segar (Kompas 2018, Kementerian Pertanian Republik Indonesia 2018). Selain ekspor dalam keadaan segar, produk bawang merah goreng juga diekspor ke Singapura dan diolah menjadi *in brine* (Rukmana 1994, Kementerian Pertanian 2017).

Kendala peningkatan produktivitas pertanian baik kuantitas maupun kualitas bawang merah terjadi karena berbagai macam hal, baik penyediaan umbi maupun benih yang bermutu dan bebas penyakit, serta banyaknya kultivar bawang merah yang lebih cocok ditanam didataran tinggi (Sumarni *et al.* 2012). Kehilangan hasil pertanian akibat serangan penyakit juga menyebabkan penurunan kuantitas dan kualitas hasil secara signifikan hingga 100% (Fritsche-Neto dan Borém 2012). Lahan budidaya untuk penanaman kultivar bawang merah di dataran tinggi juga bersaing dengan komoditas hortikultura lainnya seperti kentang, wortel, dan lain sebagainya.

Peningkatan kuantitas dan kualitas produktivitas tanaman dapat dilakukan melalui hibridisasi, mutasi, hingga transgenik. Pemanfaatan biji botani atau *true shallot seed* (TSS) pada bawang merupakan teknik produksi yang lebih baik karena biji botani bebas virus dan penyakit, volume benih, biaya produksi rendah, dan ukuran umbi yang lebih besar (Sumarni *et al.* 2012). Namun, tidak semua bawang merah responsif terhadap pembungaan, beberapa varietas membutuhkan inisiasi pembungaan, dan beberapa varietas bahkan tidak dapat berbunga seperti varietas Rubaru dan Palasa. Bawang merah varietas Rubaru dan Palasa merupakan kultivar bawang wakegi yang sulit untuk berbunga baik ditanam di dataran rendah maupun tinggi (Setyowati *et al.* 2013, Idhan *et al.* 2015). Peningkatan melalui teknik hibridisasi akan sulit untuk dimanfaatkan. Selain itu, usaha pembungaan melalui pemberian hormon sitokinin BAP hingga 250 ppm belum dapat menghasilkan bunga (Manik 2016).

Pemanfaatan teknik mutasi baik secara fisik maupun kimia menjadi alternatif untuk varietas bawang merah yang tidak mampu menghasilkan bunga. Pemanfaatan teknik mutasi secara kimia dilakukan dengan menggunakan larutan seperti etil metil sulfonat dan penggandaan kromosom menggunakan kolkisina, herbisida *oryzalin*, *trifluralin* dan *pendhimentalin* (Cheng *et al.* 2012). Pemanfaatan senyawa tersebut untuk mutasi dengan merubah tingkat ploidi pada tanaman dengan menghalangi pemisahan benang gelendong. Penelitian ini sudah dilakukan di berbagai macam tanaman baik *in vivo* seperti kacang hijau, *rye*, jagung, jeruk, kedelai, *sweet pepper* dan beberapa jenis tanaman sayuran (Haryanti *et al.* 2009, Kazi 2015, Surson *et*

Hak Cipta Ditinjau Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



al. 2015, Fathurrahman 2016, Winaryo *et al.* 2016), dan *in vitro* pada krisan, bawang merah, bawang putih, anggrek, melon, basil, singkong (Omidbaigi *et al.* 2010, Alam 2011, Cheng *et al.* 2013, Gultom 2016, Nursalim *et al.* 2018). Ploidisasi menghasilkan tanaman dengan organ-organ seperti daun, batang, bunga hingga akar yang lebih besar, selain itu juga terjadi peningkatan intensitas warna dan ketahanan terhadap cekaman biotik dan toleran cekaman abiotik (Yildiz 2013).

Perendaman umbi bawang putih Kesuna Bali secara *in vivo* pada larutan kolkisina taraf 10 ppm selama 12 jam perendaman kolkisina, 12 jam perendaman air, dilanjutkan 12 jam perendaman kolkisina menyebabkan perubahan ploidi dari diploid menjadi tetraploid (Wistiani 2014). Perendaman benih kacang hijau dalam kolkisina selama 10 jam konsentrasi 0,05% - 0,02% tidak signifikan pada jumlah daun, berat basah dan berat kering, sedangkan konsentrasi 0,1%, 0,15%, dan 0,2% meningkatkan kandungan protein serta ukuran sel akar lebih besar (Haryanti *et al.* 2009). Perlakuan 400 ppm dan 800 ppm kolkisina meningkatkan panjang dan lebar daun, lebar dan kerapatan stomata pada galur 1 dan 2 jagung (Winaryo *et al.* 2016).

Pemberian larutan kolkisina pada benih *rye* konsentrasi tinggi 5 mM dengan periode perendaman yang pendek (3 jam) menghasilkan sel dengan tingkat ploidi lebih tinggi (8C), dan anomali sel rendah serta pembentukan benang mikrotubul untuk regenerasi ke sel dengan tingkat ploidi yang sama lebih stabil setelah pemulihan dengan air selama 12 jam. Pemberian kolkisina konsentrasi rendah 0,5 mM hanya menghasilkan 2C dan 4C pada *flow cytometry* setelah proses pemulihan dengan air selama 24 jam (Caperta *et al.* 2006). Selaras dengan pendapat Wen dan Cheng (2012), secara umum perlakuan kolkisina pada konsentrasi tinggi dalam waktu singkat dan konsentrasi rendah dalam jangka waktu lama menjamin tingkat hidup dan induksi poliploid bawang putih. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian terkait Konsentrasi kolkisina serta waktu perendaman yang sesuai untuk menghasilkan tanaman poliploid dengan tingkat viabilitas tinggi dan sel yang stabil.

Selain perlakuan mutasi, pemahaman terkait pembungaan dan gen-gen yang bekerja penting dilakukan untuk meningkatkan potensi transfer sifat-sifat unggul pada bawang merah Rubaru ke varietas bawang yang lain. Gen *FLOWERING LOCUS T (FT)* merupakan florigen (hormon pembungaan) penting pada mekanisme pembungaan yang ditemukan di *A. thaliana* dan ortolognya di hampir semua tingkat tanaman (Meng *et al.* 2011; Lee *et al.* 2013; Zheng *et al.* 2016). Ekspresi berlebih dari gen *FT* pada tanaman transgenik menyebabkan pembungaan awal pada hari pendek dan panjang. Mutan dari gen *FT* menyebabkan penundaan dalam proses pembungaan (Komiya *et al.* 2008; Prasiga *et al.* 2019). Gen *FT* yang teridentifikasi pada *Allium cepa double haploid* CUDH2150 adalah *AcFT-1, 2, 3, 4, 5, 6* dan *7*. *AcFT-1* diketahui terlibat dalam pembentukan umbi, *AcFT4* bertindak sebagai penekan pembentukan umbi dengan mencegah peningkatan aktifitas (*up-regulation*) gen *AcFT-1*, sedangkan gen *AcFT-7, AcFT-4* terlibat pada pembentukan umbi dan waktu kematangan umbi (Lee *et al.* 2013; Manoharan *et al.* 2016; Lyngkhai *et al.* 2019). Paparan suhu dingin atau vernalisasi memicu peningkatan aktifitas ekspresi gen *AcFT2* menyebabkan adanya inisiasi pembungaan pada bawang bombai galur CUDH2150 dan terekspresi tinggi pada hari panjang maupun hari pendek (Lee *et al.* 2013).

Namun, penelitian-penelitian lain terkait fungsi *AcFT2*, menyatakan fungsi yang berbeda dan fungsi *AcFT2* belum diketahui dengan jelas (Dalvi *et al.* 2016;

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Lyngkhoi *et al.* 2019; Rashid *et al.* 2019). Selain itu, studi terhadap sikuen dan ekspresi *AcFT2 Allium cepa* var. *aggregatum* pada proses vernalisasi belum pernah dilakukan sebelumnya. Hal tersebut menjadikan pentingnya dilakukan penelitian lebih lanjut untuk memahami fungsi gen *AcFT2*. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari ekspresi kuantitatif gen *AcFT2* pada berbagai jenis bawang merah.

### 1.2 Rumusan Masalah

Peningkatan kuantitas dan kualitas produksi bawang merah kultivar Rubaru terutama pembesaran umbinya untuk tujuan ekspor terkendala dengan rendahnya tingkat pembungaannya. Sulitnya pembungaan kultivar ini menyebabkan terbatasnya benih botani serta upaya pemuliaan melalui hibridisasi. Pemanfaatan teknik penggandaan kromosom (ploidisasi) dapat dilakukan untuk mendapatkan umbi benih bawang merah kultivar Rubaru yang lebih besar seiring dengan peningkatan jumlah ploidinya. Akan tetapi konsentrasi serta lama perendaman perlu dioptimasi guna mendapatkan umbi benih dengan tingkat ploidi yang stabil serta viabilitas sel yang tinggi. Selain itu, identifikasi sikuen gen pembungaan *AcFT2* serta ekspresinya akan memingkatkan potensi transfer sifat-sifat penting antar varietas bawang merah.

### 1.3 Tujuan

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mempelajari pengaruh aplikasi kolkisina pada umbi terhadap peningkatan ploidi pada varietas Rubaru.
2. Mengidentifikasi sikuen fragmen gen *AcFT2* pada varietas bawang merah Lokananta, Bima Brebes, Rubaru, Palasa, dan Biru Lancor.
3. Mempelajari ekspresi relatif gen *AcFT2* dan korelasinya terkait pembungaan pada varietas bawang merah Lokananta dan Bima Brebes.
4. Mempelajari kemampuan berbunga lima varietas bawang merah terhadap perbedaan fotoperiodisme.

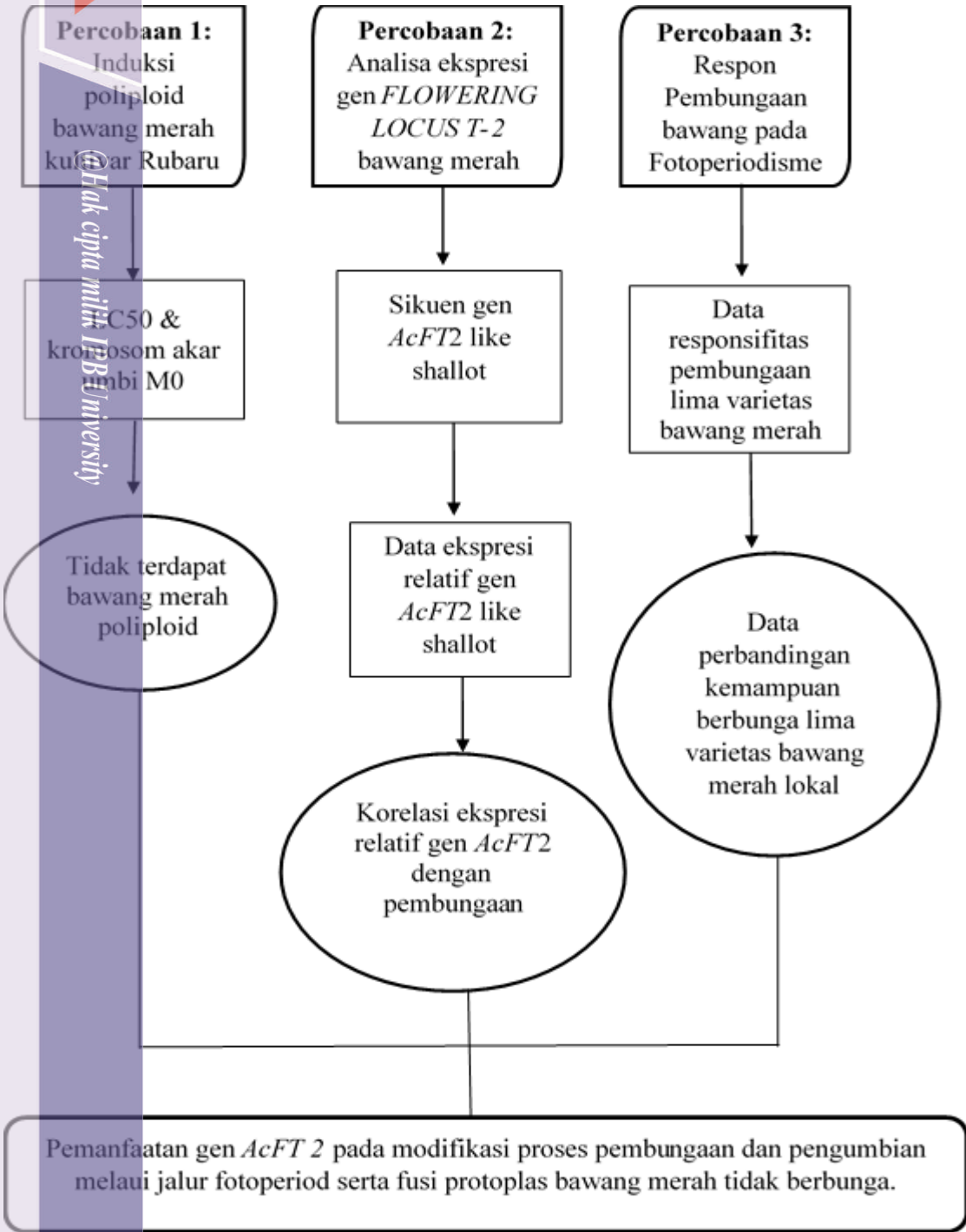
### 1.4 Manfaat

Manfaat penelitian yaitu memberikan alternatif dalam proses peningkatan produksi bawang merah secara intensifikasi dengan mengembangkan salah satu bawang merah unggulan Indonesia, varietas Rubaru dengan memperbesar umbinya melalui metode mutasi secara kimia. Upaya peningkatan produksi bawang merah melalui proses transfer sifat unggul dari varietas bawang merah local ke bawang merah yang lain dengan memberikan informasi terkait kemampuan berbunga bawang dan gen-gen yang bekerja dalam mekanisme pembungaan bawang merah. Baik berupa sikuen-sikuen maupun ekspresi gennya

### 1.5 Ruang Lingkup

Percobaan dilakukan untuk memperoleh informasi efektivitas ploidisasi dengan menggunakan kolkisina pada bawang merah kultivar Rubaru dan informasi keragamannya secara molekuler. Skema penelitian ditampilkan pada Gambar 1.





Gambar 1 Bagan alir penelitian

### 1.6 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah:

1. Terdapat peningkatan ploidi bawang merah varietas Rubaru melalui induksi ploidi dengan aplikasi kolkisina pada umbi.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

2. Diperoleh fragmen gen *AcFT2* dengan homologi yang tinggi pada lima pada varietas bawang merah Lokananta, Bima Brebes, Rubaru, Palasa dan Lokananta.
3. Terdapat korelasi antara ekspresi relatif gen *AcFT2* dengan respon berbunga varietas bawang merah Lokananta dan Bima Brebes
4. Terdapat perbedaan respon berbunga pada lima varietas bawang merah akibat perlakuan fotoperiodisme.

Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



## II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Bawang Merah

Morfologi bawang merah telah mengalami banyak perubahan pengelompokan, hingga saat ini bawang merah dikelompokkan dalam tanaman monokotil dari kelas *Liliopsidae* berordo *Asparalages* atau *Amaryllidales* keluarga *Alliaceae* bergenus *Allium* (Rabinowitch dan Currah 2002, Brewster 2008). Bawang merah telah dibudidayakan sejak zaman Mesir kuno dan telah menyebar di diberbagai benua. Genus *Allium* terdistribusi dari daerah kering subtropik hingga ke daerah tropis. bahkan satu hingga dua spesies terdapat di pinggiran sub artik seperti *A. schoenoprasum* L. beberapa tersebar di daerah pegunungan antara subtropik dan tropis. satu spesies berasal dari Afrika Selatan yakni *A. dregeanum*. Sehingga terdapat kurang lebih 500 spesies dan 250 termasuk jenis bawang-bawangan dimana saat ini telah dikembangkan menjadi 277 jenis bawang merah (Rabinowitch dan Currah 2002).

Tanaman berbentuk rumpun ini termasuk *Allium cepa* yang hampir homolog dan terbagi dalam dua grup besar yaitu *A. cepa common onion* (genom CC) dimana bawang bombai termasuk didalamnya dan *A. cepa var. aggregatum* (genom FF) sehingga bawang merah memiliki morfologi yang mirip dengan bawang bombai namun berukuran lebih kecil. Tinggi tanaman antara 15-25 cm, memiliki akar serabut dengan perakaran dangkal. Batangnya merupakan batang semu menyebabkannya tidak tahan terhadap kekeringan. Daunnya berbentuk pipa memanjang dengan ujung meruncing (lancelot) dan agak berlilin. Intensitas warna daun beragam dari hijau terang hingga gelap, bahkan hitam (Hapsah dan Hasanah 2011). Cakram diantara lapisan kelopak daun terdapat tunas lateral dan anakan yang akan membentuk cakram baru sehingga membentuk umbi lapis, tunas utama (Rabinowitch dan Currah 2002).

Bawang merah umumnya membiak secara vegetatif fakultatif yang artinya juga dapat membiak secara generatif menggunakan biji. Bakal bunga terbentuk dari tunas utama (tunas apikal) yang membentuk tangkai bunga berongga. Bunga muncul dibagian ujung tangkai berbentuk kuncup yang berisi dari kumpulan biji-biji (Brewster 2008). Selama proses transisi dari vegetatif menuju ke generatif, pertumbuhan monopodial menjadi simpodial pada batang tetapi tidak mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan tanaman secara keseluruhan. Buah berbentuk bulat dengan ujung tumpul membungkus biji dan berjumlah 2 sampai 3 butir. Biji berbentuk pipih, biji muda berwarna bening atau putih, tetapi setelah masak menjadi hitam (Brewster 2008).

Budidaya bawang merah di Indonesia secara umum dilakukan pada bulan kering sekitar 4 sampai 5 bulan dengan musim tanam optimal pada akhir musim hujan (Maret-April) atau akhir musim kemarau (Mei-Juni). Curah hujan untuk budidaya bawang merah di Indonesia yakni 1000 sampai 1500 mm per tahun. Suhu lingkungan tanam bawang merah antara 25-32 °C dengan pH tanah 5,6-6,5. Tanah yang digunakan harus memiliki kesuburan dan drainase yang baik, tekstur tanah remah, lempung berpasir dan tidak ternaungi (Erythrina 2011).

Bawang merah yang ditanaman di Indonesia berasal dari negara lain dan telah mengalami perubahan atau evolusi dan beradaptasi dengan lingkungan lokal

sehingga membentuk varietas baru. Beberapa varietas bawang merah yang ditanam di Indonesia disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1 Varietas lokal bawang merah di Indonesia

No	Varietas	Asal	Asal
1	Bima Brebes	594/Kpts/TP.240/8/1984	Lokal Brebes
2	Medan	595/Kpts/TP.240/8/1984	Lokal Samosir
3	Keling	596/Kpts/TP.240/8/1984	Lokal Maja
4	Bima Maja Cipanas	597/Kpts/TP.240/8/1984	Lokal Cipanas
5	Super Philip	65/Kpts/TP.240/2/2000	Lokal Nganjuk
6	Bauji	66/Kpts/TP.240/2/2000	Introduksi dari Philipina
7	Bangkok	68/Kpts/TP.240/2/2000	Introduksi dari Thailand
8	Kramat-1	225/Kpts/TP.240/4/2001	Maja Cipanas x Bawang Bombay
9	Karamat-2	226/Kpts/TP.240/4/2001	Maja Cipanas x Bawang Bombay
10	Kuning	227/Kpts/TP.240/4/2002	Lokal Brebes
11	Tiron	498/Kpts/TP.240/8/2003	Bantul, DIY
12	Keta Monca	529/Kpts/PD.210/10/2004	Bima, NTB
13	Batu Ijo	368/Kpts/LB.240/6/2004	Batu Malang, Jatim
14	Palasa	480/Kpts/LB.240/6/2004	Parigi Moutg, Sulteng
15	Tinombo	481/Kpts/LB.240/6/2004	Parigi Moutg, Sulteng
16	Tuk-Tuk	361/Kpts/SR.120/5/2006	PT.East West Seed Philipina
17	Sembrani	304/Kpts/SR.120/5/2007	Balitsa Lembang
18	Katumi	305/Kpts/SR.120/5/2007	Balitsa Lembang
19	Manjung	703/Kpts/SR.120/5/2007	Pamekasan, Jatim
20	Biru Lancor	2830/Kpts/SR.120/7/2009	Probolinggo, Jatim
21	Lembah Palu	11843/Kpts/SR.120/4/2011	Lembah Palu, Sul
22	Rubaru	2525/Kpts/SR.120/5/2011	Sumenep, Jatim
23	Trisula	4580/Kpts/SR.120/11/2011	Balitsa Lembang
24	Pancasona	4581/Kpts/SR.120/11/2011	Balitsa Lembang
25	Mentes	4582/Kpts/SR.120/11/2011	Balitsa Lembang

Sumber: Dirjen Hortikultura (2012).

Produksi bawang merah dihasilkan dari 24 provinsi di Indonesia dengan penghasil utama dari wilayah 7 provinsi dengan kontribusi 95.8% dan jawa menyumbang 75% nya. Luas pengembangan areal produksi mencapai 90 ribu ha pertahun dan menyumbang hampir Rp. 2,7 T/tahun ekonomi wilayah. Swasembada bawang merah yang dilakukan oleh pemerintah telah menjadikan bawang merah menjadi komoditas ekspor. Sehingga pemerintah menargetkan peningkatan produksi bawang merah baik dari segi kuantitas maupun kualitas. Walaupun peningkatan produksi bawang merah terdata pada tahun 2016 ke 2017 sebesar 1,7% dengan proyeksi ekspor sebesar 7 750 ton pada tahun 2017 menjadi 15



ribu ton di tahun 2018 (Kementerian Pertanian Republik Indonesia 2018; Kompas 2018).

## 2.2 Bawang Merah Kultivar Rubaru

Bawang merah kultivar Rubaru merupakan bawang merah lokal kecamatan Rubaru, Kabupaten Sumenep, Madura, Jawa Timur. Bawang merah lokal ini dikeluarkan dengan SK Mentan No.2525/Kpts/SR.120/5/2011. Kultivar ini banyak dipilih oleh masyarakat umum maupun produsen karena memiliki aroma yang harum dan kuat serta tingkat kerenyahan yang tinggi saat diolah menjadi bawang goreng (Lestari 2010, Harisandi 2013, Baswarsiaty *et al.* 2015).

Bawang merah ini memiliki warna daun hijau, bentuk umbi bulat berwarna merah muda, bobot perumbi berkisar 6-9 g, jumlah umbi perumpun 6-10, bentuk ujung umbi bulat lonjong diameter umbi 2,3 – 2,6 cm. Umur panen 60-65 hari, potensi hasil 14-17 ton/ha<sup>-1</sup>, susut bobot umbi 10-15% (basah-kering), daya simpan umbi 3-5 bulan. daya adaptasi tinggi sehingga sesuai untuk ditanam baik didataran rendah maupun tinggi pada musim kemarau dan hujan. Toleran moderat pada tanah salin, ketahanan tinggi terhadap *Fusarium sp.*, *Alternaria*, dan antraknosa. Rubaru merupakan kelompok bawang merah kultivar wakegi bersama dengan Palasa, kultivar ini sulit berbunga, potensi pembungaannya hanya 10% (Galvan *et al.* 1997, Harisandi 2013, Baswarsiaty *et al.* 2015, Hidayat dan Sulastrini 2016, Yuliani 2017, Aprilia 2018).

## 2.3 Ploidisasi (Penggandaan Kromosom)

Ploidisasi atau usaha menggandakan kromosom umumnya dilakukan dengan memanfaatkan bahan kimia kolkisina (C<sub>23</sub>H<sub>25</sub>O<sub>6</sub>N), alkaloid yang diekstrak dari umbi dan biji tanaman *Autum crocus* (*Colchicum autumnale*, Linn) termasuk dalam famili Liliaceae (Syukur *et al.* 2015, Laimeheriwa 2018). Bahan kimia lain yang mampu menghalangi pembentukan mikrotubul pada fase mitosis bawang merah yakni herbisida orizalin, *trifluralin*, *pendhimentalin*, dan AMP (*amiprophosmeti*) (Klima *et al.* 2008, Cheng *et al.* 2012). Senyawa-senyawa tersebut dapat mengganggu pembentukan benang gelendong pada tahap metafase mitosis sehingga kromosom tetap berpasangan dan ikut mengganda pada proses replikasi.

Keberhasilan penggandaan kromosom pada setiap tanaman berbeda. Beberapa faktor yang mempengaruhi keberhasilan tersebut yakni konsentrasi, lama perendaman baik dalam konsentrasi maupun lama perlakuan. Secara umum, kolkisina efektif bekerja pada konsentrasi 0,001-1% dengan rentang 6-72 jam tergantung jenis dan organ tanaman yang digunakan akan menghasilkan respon yang berbeda (Suminah *et al.* 2002, Aristya 2014).

Hasil ploidisasi dengan menggunakan kolkisina bawang merah tidak selalu menghasilkan tanaman autoploid, namun juga mengarah ke pembentukan tanaman aneuploidi. Pada bawang putih lokal kultivar Dolulu, ragam ploidi kromosom baik eu- dan aneu-ploidi dihasilkan pada berbagai macam konsentrasi dan lama perendaman kolkisina. Konsentrasi 0,1% 12 jam, 0,2% 18 jam, 0,3% 24 jam menghasilkan ploidi tetraploid (4n), 0,1% 6 jam dan 0,2% 12 jam menghasilkan ploidi dasar dengan penambahan 6 dan 4 buah kromosom. Konsentrasi 0,1% perendaman 18 dan 24 jam menghasilkan kromosom 3n + 6, 0,2% 12 jam dan 0,3% 24 jam menghasilkan 4n + 1, 0,3% 6 jam dan 0,2% 24 jam menghasilkan ploidi 5n + 8 dan 6n + 4 berturut-turut. Selain itu, pemisahan abnormal sister kromatid akibat perlakuan kolkisina juga

Hak Cipta Dindingi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



menyebabkan trisomik ( $2n+1$ ) dan monosomik ( $2n-1$ ) pada akar bawang merah (Firbas dan Amon 2014, Gultom 2016).

Keberagaman ploidi yang dihasilkan tak lepas dari proses penggandaan kromosom setelah perlakuan perendaman kolkisina yang berfungsi sebagai pengganggu keberadaan mikrotubul pada proses pembelahan sel sehingga tidak terjadi proses sitokenesis (Hancock 2005, Syukur *et al.* 2015). Proses pembelahan sel dari G1-S-S-M dikendalikan oleh famili protein serin yang disebut dengan cyclin-dependent kinases (CDKs) yang diaktifasi oleh protein cyclin tipe A dan B (Fox dan Duronio 2015). Kolkisina mempengaruhi siklus protein-protein pembelahan sel, dimana secara umum ditunjukkan bahwa tingkat protein *cyclin B-like* meningkat di kolkisina terjerap pada metafase, dan *cyclin B* yang tidak terdegradasi oleh preskisin oleh sel pada saat terjadi endoreduplikasi dan poliploidi (Chaudhuri dan Gosh 1997, Weingartner *et al.* 2004).

Proses perendaman dengan menggunakan kolkisina dalam waktu singkat (3 jam) dan konsentrasi tinggi (5  $\mu$ M) pada kecambah *rye* menginduksi proses regenerasi mikrotubul ditandai dengan tingginya tingkat viabilitas sel dan kestabilan ploidi. Hal ini dikarenakan ketiadaan tubulin terpolimerasi pada c-metafase dipersingkat waktunya, sehingga kemungkinan terhambatnya reorganisasi kromatin pada nukleus yang memungkinkan hilangnya viabilitas sel semakin rendah, serta sel-sel abnormal semakin sedikit (Caperta *et al.* 2006). Kromatin merupakan penyusun kromatid yang berisi DNA, RNA dan protein-protein khusus yang sesaat sebelum proses pembelahan sel akan berkelompok membentuk butir-butir kromosom (Lehninger 2005), sehingga tingginya reorganisasi kromatin yang diikuti rendahnya sel abnormal akan memberikan kesempatan perbaikan DNA pada fase mitosis meningkatkan viabilitas serta menjaga jumlah ploidi yang telah digandakan. Pembentukan poliploidi dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu polispermi, endoreduplikasi, dan faktor-faktor lain. Faktor-faktor lain yang mempengaruhi poliploidi yaitu model reproduksi, polinasi, fertilisasi, pola pertumbuhan, ukuran kromosom, dan lain sebagainya (Bharadwaj 2015).

## 2.5 Mekanisme Pembungaan dan Gen-Gen yang Terkait pada Bawang Merah

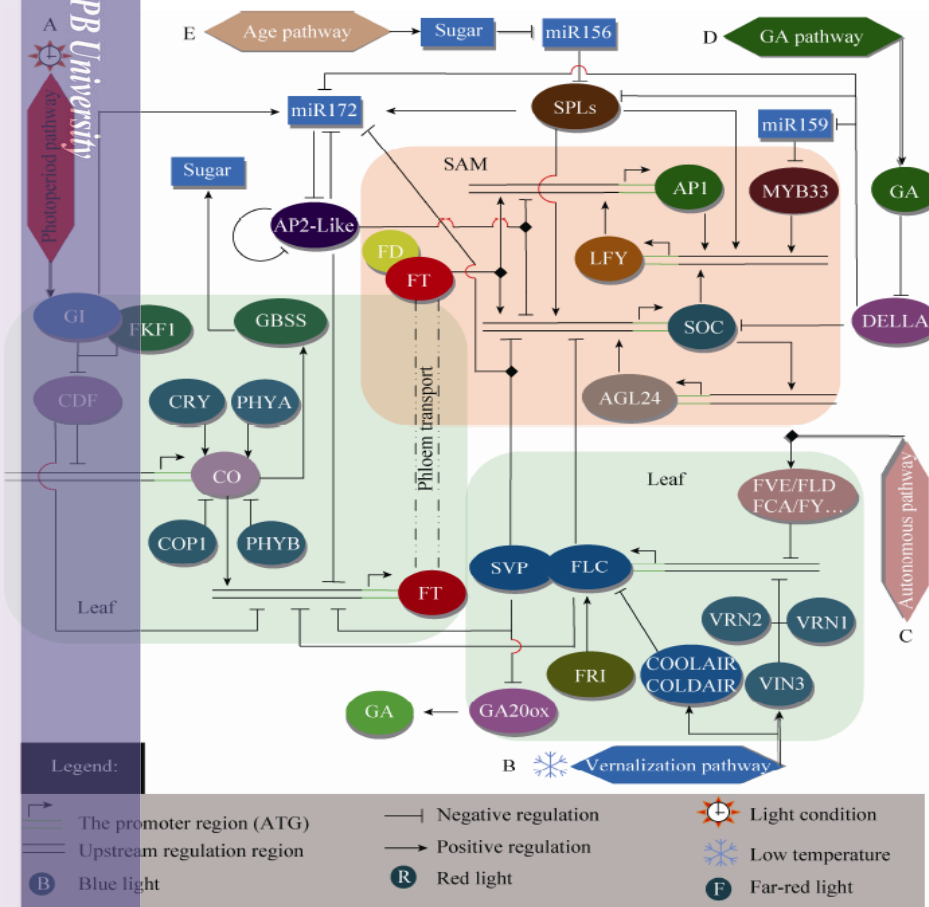
Pembungaan merupakan tahap kritis pada siklus hidup tanaman dalam proses regenerasinya. Proses peralihan dari tahap vegetatif menuju ke tahap reproduktif suatu tanaman ini sekaligus memegang peranan penting dalam produksi pertanian, terutama biji yang dihasilkan. Hampir 60% pangan penduduk dunia terpenuhi dari biji-bijian (ELC 2015).

### Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



Transisi pembungaan penting untuk mengubah fase dari vegetatif menjadi reproduktif melalui jaringan pengatur pembungaan yang kompleks yang didorong oleh faktor kompleks, baik dari faktor endogen maupun eksogen (Lifschitz dan Eshed 2006, Liu *et al.* 2015) seperti paparan cahaya dan kualitas cahaya (misalnya fotoperiode), suhu lingkungan sekitar, kondisi pertumbuhan vegetatif (misalnya jalur pembungaan otonom) (Henderson *et al.* 2003). Faktor-faktor pembungaan tersebut terbagi pada lima jalur utama pembungaan yang diketahui pada *A. thaliana*, yaitu jalur fotoperiode, jalur vernalisasi, jalur otonom, giberelin (GA), dan jalur usia yang baru diidentifikasi (Kim dan Sung 2014, Liu *et al.* 2015)



Gambar 2 Lima jalur utama mekanisem pembungaan. A. Jalur Fotoperiodisitas, B. Jalur vernalisasi, C. jalur autonomus, D. jalur Giberelin (GA), dan E. jalur umur (Liu *et al.* (2015) *Chin. J. Bio.* 31(11): 1553–1566)

Faktor-faktor tersebut mendorong transisi bunga dari meristem apikal pucuk vegetatif (SAM) menjadi meristem perbungaan (IM) pembentuk tunas bunga (FBs) dalam perkembangan tanaman (Thou *et al.* 2012, Pasriga *et al.* 2019). Tahapan transisi pembungaan yang terjadi melibatkan gen-gen yang berbeda. Gen yang terlibat dalam pembungaan telah diidentifikasi dalam model tanaman *A. thaliana* dan tanaman lain seperti *gen-box MAD*, *FKF*, *CO* (Constant), *FT* (Flowering locus T), *FD*, *SOC1* (Suppression of Constant1) dikenal juga

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber ;

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

sebagai *AGAMOUS LIKE (AGL)*, *APETALA*, *LFY*, *FLC* (*Flowering Locus C* (Jack 2004, Thomas *et al.* 2006, Yang 2016).

*Flowering locus T (FT)* merupakan florigen yang berperan penting dalam proses pembungaan. Gen *FT* dari *A. thaliana* dan ortolognya ditemukan di hampir semua tingkat tanaman (Meng *et al.* 2011, Lee *et al.* 2013, Tamaki *et al.* 2015, Alter *et al.* 2016, Zheng *et al.* 2016). *FLOWERING LOCUS T* merupakan bagian dari family PEBPs (Phosphatidylethanolamine-binding protein domain) yang sebagian besar merupakan promotor pembungaan (Kralgren *et al.* 2011, Taoka *et al.* 2013). Gen *FT* mempromosikan sebagian besar gen pengatur yang penting untuk perkembangan perbungaan dan mutan dari gen ini menyebabkan penundaan dalam proses pembungaan, seperti *RFT1* dan *Heading date 3* pada beras (Komiya *et al.* 2008, Zhu *et al.* 2017, Prasiga *et al.* 2019), *ZCN8* DAN *ZCN12* pada jagung (Danilevskaya *et al.* 2008, Meng *et al.* 2011, Lazakis *et al.* 2011, Castelletti *et al.* 2020), *MonFTIC* in orchids (Ospina-zapata *et al.* 2020), *SINGLE FLOWER TRUSS (STF)* pada tomat (Lifschitz *et al.* 2006, Samach *et al.* 2007). Ekspresi berlebih dari gen *FT* pada tanaman transgenik menyebabkan pembungaan awal pada hari pendek dan panjang (Lee dan Lee 2010). protein *FT* berperan sebagai aktivator mobile floral yang disintesis di daun (floem) dan diangkut ke pucuk untuk menghasilkan tunas pembungaan (Xu *et al.* 2012, Pasriga *et al.* 2019). Gen *FT* pada *A. thaliana* (*AtFT*) merupakan komponen utama pembungaan yang ekspresinya bekerja dengan adanya cahaya (fotoperiodisitas) dan suhu (vernalisasi), serta faktor lain pada daun (Adeyemo *et al.* 2017).

Protein *GI-CO-FT* bekerja pada jalur fotoperiode utama untuk menghasilkan transkripsi *FT* pada hari yang panjang, bukan pada hari yang pendek dan aktivasi postranskripsi *CO* akan terjadi ketika *CO* mRNA diekspresikan di bawah paparan cahaya (Jack 2004). Selain merangsang pembungaan melalui jalur fotoperiode, *FT* juga memfasilitasi pembungaan melalui proses vernalisasi (Xu *et al.* 2012). Vernalisasi mendorong transisi meristem apikal dengan meningkatkan ekspresi gen vernalisation (*VRN*) meningkatkan *VRN1*, (*AP1* homolog) dengan menekan sistem kerja gen *VRN2* (gen vernalisasi) yang menyebabkan pembungkaman epigenetik dari gen *FLC* dan *FLC*, yang menghambat aksi *FT*, *FD* dan *SOC1*, sehingga mempercepat proses pembungaan terjadi ketika tanaman dipindahkan ke kondisi yang lebih hangat di bawah paparan cahaya yang mendorong gen *CO* untuk mengaktifkan gen *FDL2* dan gen *VRN3* homolog *FT* (Tresvaskis *et al.* 2007; Xu *et al.* 2012; Khan *et al.* 2013; Kim dan Sung 2014; Liu *et al.* 2015; Zheng *et al.* 2018).

Studi tentang mekanisme gen pembungaan pada bawang merah telah dilakukan pada beberapa jenis bawang merah, seperti gen *FT*, *AcFKF1*, *AcGI*, *AcFT1* dan *AcCOL2* pada bawang merah, serta gen *LFY* pada bawang merah dan bawang merah (Lee *et al.* 2013; Tagashira dan Kaneta 2015, Manoharan *et al.* 2016; Yang *et al.* 2016; Marlin *et al.* 2018; Rashid *et al.* 2018; Lyngkhoi *et al.* 2019). Gen lokus *FT* yang telah teridentifikasi pada galur bawang merah (*Allium cepa*) CUDH2150 adalah *AcFT-1*, 2, 3, 4, 5, 6 dan 7. *AcFT-1* yang diketahui terlibat dalam pembentukan umbi, *AcFT4* bertindak sebagai penekan pada pembentukan umbi dengan mencegah up-regulating *AcFT-1*, sedangkan gen *AcFT-7*, *AcFT-4* melibatkan waktu yang berbeda dari pembentukan umbi dan waktu kematangan umbi (Lee *et al.* 2013, Manoharan *et al.* 2016, Lyngkhoi *et al.* 2019). Pada bawang merah, vernalisasi cukup untuk memicu pembungaan,

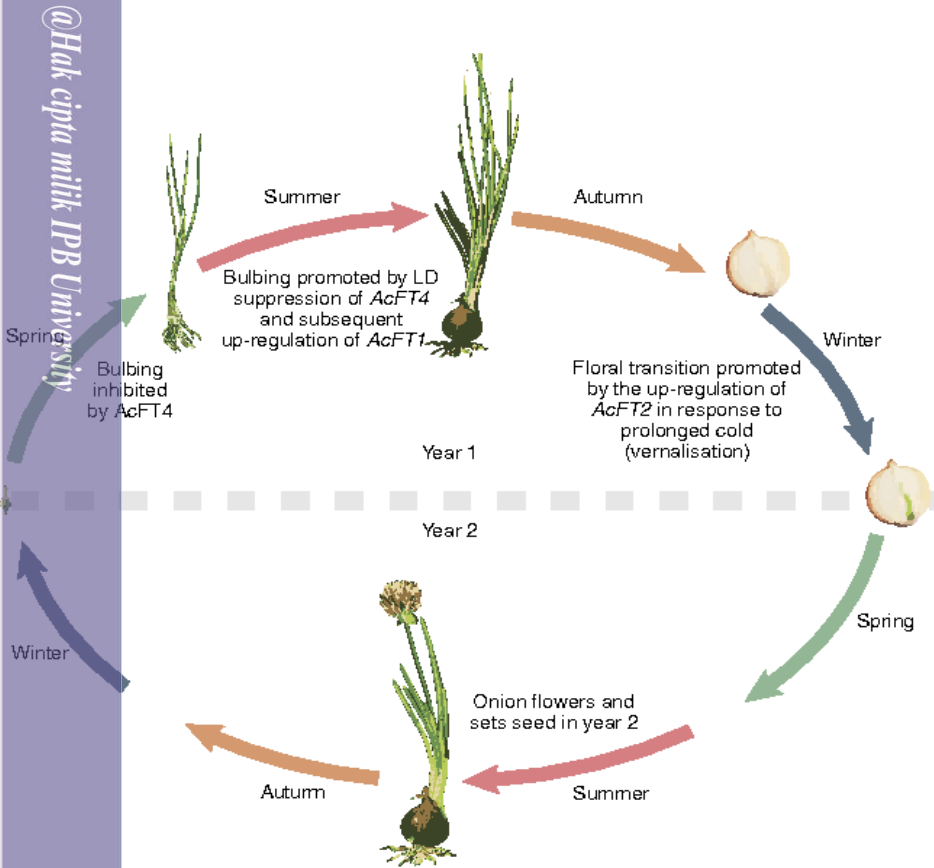
Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

meskipun suhu dan fotoperiode mempengaruhi waktu yang dibutuhkan untuk munculnya perbungaan (Khokhar *et al.* 2007, Marlin *et al.* 2018). Gen *AcFT2* bekerja pada waktu berbunga yang dipicu oleh paparan suhu dingin atau vernalisasi yang lama (Lee *et al.* 2013).



Gambar 3 Fungsi gen *AcFT* pada bawang bombai galur CUDH2150 (Lee *et al.* (2013) *Nature Communication.* 4:2884)

Proses perbanyakan dan budidaya bawang merah kebanyakan dilakukan menggunakan umbi, namun saat ini, penggunaan *true shallot seed* (TSS) sebagai bahan perbanyakan banyak dilakukan karena memiliki berbagai keuntungan dibandingkan jika menggunakan umbi. Berbagai keuntungan itu diantaranya yaitu benih bebas penyakit, kebutuhannya yang rendah (Rosliani *et al.* 2005). Namun ada beberapa varietas bawang merah lokal Indonesia yang tidak dapat menghasilkan bunga (Tabel 2).

Tabel 2 Karakter pembungaan bawang merah lokal Indonesia

Varietas	Responsifitas Pembungaan			Sumber
	Responsif	Inisiasi	Tidak berbunga	
Lokamanta		✓		Citra dan Firmansyah (2020)
Bentanis	✓			Marlin <i>et al.</i> (2018)
Bima Brebes		✓		Marlin <i>et al.</i> (2018)
Taju		✓		Marlin <i>et al.</i> (2018)
Ilokes		✓		Marlin <i>et al.</i> (2018)
Batujo		✓		Nurjanani dan Djufry (2018)
Nganuk		✓		Nurjanani dan Djufry (2018)
Maja		✓		Nurjanani dan Djufry (2018)
Cipanas		✓		Nurjanani dan Djufry (2018)
Memes		✓		Nurjanani dan Djufry (2018)
Trisuta		✓		Nurjanani dan Djufry (2018)
Pancasona		✓		Nurjanani dan Djufry (2018)
Sumenep			✓	Idhan <i>et al.</i> 2015
Palasa			✓	Idhan <i>et al.</i> 2015

## 2.6 Analisa Ekspresi Gen Metode *Quantitative Real-Time PCR* (qRT-PCR)

Salah satu metode untuk analisa kelimpahan RNA secara kuantitatif yang diekspresikan pada gen tertentu yakni metode qRT-PCR. qRT-PCR banyak digunakan saat ini karena spektrum penggunaannya yang luas, lebih murah, efisien dan sensitif (Alvares *et al.* 2003; Yu *et al.* 2019) untuk menganalisa ekspresi gen dalam jumlah RNA yang sedikit (Bustin 2000), serta perubahan yang kecil pada ekspresi mRNA (Pfaffl dan Hageleit 2001). Metode ini telah digunakan untuk mempelajari ekspresi gen pada organisme saat tahap perkembangan (Wang *et al.* 2014; Sinha *et al.* 2019), cekaman lingkungan abiotik seperti kekeringan, banjir, salinitas, suhu tinggi (Wehner *et al.* 2016; Casarotto *et al.* 2019; Cao *et al.* 2020), cekaman biotik seperti patogen (Yu *et al.* 2014), perbedaan ekspresi gen pada tanaman transgenik dan non-transgenik (Shepherd 2009; Yu *et al.* 2014) validasi efektivitas RNA interferon (Zhao *et al.* 2008), serta diagnosa penyakit (Paik *et al.* 2004).

Metode analisa ekspresi gen secara kuantitatif yang umum dilakukan yakni kuantitatif absolut dan kuantitatif relatif. Metode kuantitatif absolut memberikan informasi jumlah salinan (*copy*) gen target pada konsentrasi tertentu kemudian dibandingkan dengan menggunakan kurva standar (Horner 2003; Yu *et al.* 2005; Dhanasekaran 2010). Metode ini membutuhkan kurva standar yang telah diketahui jumlah salinan DNanya dan harus dikuantifikasi dengan akurat (Horner 2003). Metode kuantitatif relatif menghasilkan data jumlah gen target yang relatif (berapa kali) terhadap sampel lain (kalibrator) yang berisi gen target dan gen referensi (Lehmann dan Kreipe 2001). Pengolahan data metode *relative quantitation* dapat dilakukan dengan menggunakan kurva standar (*relative standart curve method*) dan menggunakan metode komparasi (*comparative method*) (Horner 2003).

Metode kurva standar relatif banyak digunakan untuk menguji target dengan jumlah salinan *copy* yang rendah, perubahan ekspresi yang sangat berbeda, dan sampel dalam jumlah kecil. Metode ini memerlukan kurva standar disetiap reaksinya, sehingga hasil kuantifikasinya sangat akurat karena nilai kuantitatif sampel yang tidak diketahui terinterpolasi dari masing-masing kurva standar (Applied Biosystem 2004). Metode



komparasi relatif banyak digunakan untuk menganalisa dan membandingkan ekspresi gen pada perlakuan yang berbeda. Metode ini menggunakan determinasi matematika dengan rumus  $2^{-\Delta\Delta CT}$  (Livak dan Schmittgen 2001). Tingkat ekspresi gen dari kedua metode dapat diketahui dengan melihat nilai  $C_t$  (*cycle threshold*) yang merupakan jumlah siklus amplifikasi yang diperlukan fluorosent untuk mencapai suatu ambang tertentu (fase eksponensial). Kedua metode tersebut membutuhkan komponen yaitu gen referensi dan *fluorescence reporter*, yang berbeda, metode komparasi relatif memerlukan kalibrator. Kalibrator adalah kontrol yang digunakan untuk pembandingan sebagai standar yang selalu memiliki nilai 1 kali (Livak dan Schmittgen 2001; Dhanasekaran 2010).

Gen referensi digunakan sebagai pembandingan internal jumlah DNA agar tidak terjadi kesalahan analisa karena perbedaan konsentrasi (*normalizer*). Beberapa gen referensi yang dapat digunakan adalah aktin, *EF1Bb*, *CACS*, *F-Box*,  $\beta$ -*tubulin*,  $\beta$ -*glucosidase*, *gliseraldehid-3-phosphatdehidrogenase* (GADPH) dan ubiquitin (Bustin 2000; Libault *et al.* 2008 Tian *et al.* 2015, Yu *et al.* 2019). Penggunaan gen referensi harus terlebih dahulu diseleksi. Gen referensi yang terlalu kuat atau terlalu lemah ekspresinya dibandingkan dengan gen target akan menjadikan hasil ekspresi menjadi bias. Cheng *et al.* (2019), menyatakan bahwa gen referensi setidaknya harus memiliki ekspresi yang cukup mirip dengan target gen sehingga data real-time PCR yang dihasilkan akan lebih meyakinkan pada gen target dan meminimalisir deviasi. Selain itu, gen referensi harus memiliki ekspresi yang stabil pada sel-sel yang berbeda dan pada kondisi percobaan yang berbeda (Hugget 2005, Yang *et al.* 2020). *Fluorescence reporter* merupakan senyawa kimia yang mampu mendeteksi utas ganda DNA. *Fluorescence reporter* yang biasa digunakan pada qRT-PCR adalah SYBR Green TaqMan (Applied Biosystem 2003).

Metode analisa kuantitatif relatif ekspresi gen dengan kuantitatif real time polymerase reaction (qRT-PCR) telah digunakan untuk mendeteksi ekspresi relatif dari genus *Allium*. Baik metode absolut menggunakan kurva standar (Rashid *et al.* 2019), maupun dengan metode komparatif  $\Delta\Delta CT$  (Lee *et al.* 2013, Dalvi *et al.* 2016, Manoharan *et al.* 2016, Lyngkhoi *et al.* 2019).

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang  
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

### III INDUKSI POLIPLOID BAWANG MERAH VARIETAS RUBARU

#### 3.1 Abstrak

##### Abstrak

Rubaru adalah varietas bawang merah yang tidak dapat menghasilkan bunga. Usaha peningkatan kualitas dan kuantitas umbinya dapat menggunakan metode mutasi secara kimia dengan kolkisina, sehingga mampu meningkatkan level ploidi yang berimplikasi pada pertambahan ukuran umbi. Desain percobaan menggunakan rancangan kelompok lengkap teracak (RKLT) 2 faktorial, yakni enam tingkat konsentrasi kolkisina dan empat lama perendaman. Analisa kromosom dilakukan pada umbi bawang M0 tujuh hari setelah perendaman, dan analisa LC<sub>50</sub> pada 4-MST menggunakan *software* CurveExpert. Hasil penelitian menunjukkan bahwa induksi ploidi dengan menggunakan kolkisina tidak dihasilkan bawang merah M1V1 dengan ploidi yang lebih tinggi dari asalnya. Meskipun didapatkan nilai LC<sub>50</sub> kolkisina untuk umbi bawang merah pada konsentrasi 0,1277% dan perendaman umbi bawang dengan kolkisina menghasilkan umbi M0 terploidisasi, namun umbi M0 yang mengalami perubahan ploidi dicirikan oleh membesarnya ukuran diameter daun dan akar semua mati pada minggu ke empat. Hal tersebut dikarenakan adanya *diplontic selection* pada sel-sel umbi M0 bawang merah Rubaru.

Kata kunci: LC<sub>50</sub>, *diplontic selection*, kromosom.

##### Abstract

Rubaru is one of the Indonesian shallot varieties that cannot produce flowers. Increasing the quality and quantity of its tuber, could be done by mutation process using chemical mutations by colchicine, so that increase the ploidy level which has implications for the increase in tuber size. The experimental design used random complete block design (RCBD) two factorial, six levels of colchicine concentration and four immersion times. Chromosome analysis was performed on onion bulb M0 seven days after immersion, and LC<sub>50</sub> analysis at 4-MST using CurveExpert software. The result showed that ploidy induction using colchicine did not produce M1V1 shallots with higher ploidy than the origin. The LC<sub>50</sub> value of 0,1277% resulted, as well as M0 tubers with tetraploid. However, M0 tubers which its ploidy changes were characterized by an increase in the size of the leaf diameter and the roots all died at week four. This is due to the *diplontic selection* in the M0 bulb of Rubaru's shallot.

Keywords: LC<sub>50</sub>, *diplontic selection*, chromosomes.





### 3.2 Pendahuluan

Bawang merah lokal, lebih disukai dibandingkan dengan bawang merah impor. Keunggulan yang dimiliki varietas lokal tersebut antara lain daya hasil tinggi, jumlah anakan banyak, serta memiliki bentuk, warna umbi, dan aroma yang khas. Kultivar rubaru banyak dipilih oleh masyarakat umum maupun produsen karena memiliki aroma yang harum dan kuat serta tingkat kerenyahan yang tinggi saat diolah menjadi bawang goreng (Lestari 2010, Harisandi 2013, Baswarsiati *et al.* 2015). Akan tetapi, ukuran umbinya masih terlalu kecil dibandingkan dengan bawang merah lokal lainnya.

Pemuliaan mutasi dengan menggunakan kolkisina diharapkan mampu meningkatkan ukuran umbi bawang merah Rubaru, sehingga mampu meningkatkan daya saingnya dengan bawang merah lainnya. Induksi mutasi baik menggunakan mutagen fisik maupun kimia dapat meningkatkan level ploidi suatu tanaman.

Pemanfaatan teknik mutasi secara kimia dilakukan dengan menggunakan larutan seperti etil metil sulfonat dan penggandaan kromosom menggunakan kolkisina, herbisida *oryzalin*, *trifluralin* dan *pendhimentalin* (Cheng *et al.* 2012). Pemanfaatan senyawa tersebut untuk mutasi dengan merubah tingkat ploidi pada tanaman dengan menghalangi pemisahan benang gelendong pada bawang merah (Omidbaigi *et al.* 2010). Ploidisasi menghasilkan tanaman dengan organ-organ seperti daun, batang, bunga hingga akar yang lebih besar, selain itu juga terjadi peningkatan intensitas warna dan ketahanan terhadap cekaman biotik dan toleran cekaman abiotik (Callaway 2000, Yildiz 2013).

### 3.3 Metode

#### 3.3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret-Juni 2019, bertempat di Lahan percobaan Pasir Kuda PKHT Institut Pertanian Bogor dan Laboratorium Mikroteknik, Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor.

#### 3.3.2 Alat dan Bahan

Bahan tanaman yang digunakan pada penelitian ini terdiri atas umbi bawang merah varietas Rubaru. Deskripsi varietas Rubaru disajikan pada Lampiran 1. Bahan kimia kolkisina digunakan untuk perlakuan penggandaan kromosom. Peralatan lapang yang digunakan pada penelitian ini antara lain cangkul, sekop, ember. Media tanam yang digunakan adalah arang sekam, kompos dan tanah dengan perbandingan 1:1:1. Pengamatan kromosom menggunakan mikroskop, cawan petri, gelas objek dan penutup. Bahan kimia yang digunakan dalam pengamatan kromosom antara lain: HCL, akuades steril dan pewarna aceto orcein.

#### 3.3.3 Prosedur Kerja

##### 3.3.3.1 Rancangan Percobaan.

Rancangan percobaan dalam penelitian ini menggunakan Rancangan Kelompok Lengkap Teracak Faktorial dengan 2 kali ulangan. Faktor pertama berupa konsentrasi perendaman 0,01%, 0,02%, 0,05%, 0,1%, dan 0,2%. Faktor kedua lama perendaman 3, 6, 12, dan 24 jam sesuai dengan penelitian Caperta *et al.* (2006) dimodifikasi, dan setiap taraf diulang sebanyak 3 kali. Total terdapat 60



satuan percobaan, setiap satuan percobaan terdapat 10 umbi sehingga terdapat 600 umbi bawang merah yang diamati. Perhitungan nilai LC50 didapat dengan membandingkan jumlah tanaman yang hidup pada setiap konsentrasi kolkisina yang diberikan pada 4 MST dengan kontrol kemudian dicari nilai persamaannya menggunakan Curvit Analysis Software,

$$\text{Tanaman hidup (\%)} = \frac{\text{jumlah tanaman hidup perkonsentrasi}}{\text{jumlah tanaman hidup kontrol (0\%)}} \times 100\%$$

### 3.3.3.1 Metode Pelaksanaan

Persiapan bahan tanam menggunakan media tanam campuran tanah, sekam padi, kompos dengan perbandingan 2:1:0.5 pada bendeng percobaan ukuran panjang 10 m x lebar 1.5 m. Sebanyak 10 umbi untuk masing-masing satuan percobaan. Umbi di potong sepertiga bagian atasnya untuk memudahkan kolkisina masuk kedalam jaringannya. Kemudian direndam dalam larutan kolkisina sesuai dengan perlakuan pada suhu 24°C di ruang gelap. umbi yang telah direndam dibungkus kertas merang basah selama 24 jam, dan ditumbuhkan akarnya pada suhu 24 °C ruang gelap selama 2 hari. Kemudian dilakukan analisa sitologi pada akar seluruh individu setiap perlakuan sebelum ditanam dan umbi M0. Umbi yang telah direndam sesuai dengan perlakuan kemudian di tanam pada petak percobaan dengan jarak tanam 10 x 10 cm.

Kegiatan pemeliharaan yang dilakukan terdiri atas penyiraman yang dilakukan minimal 1 kali setiap hari, penyiangan gulma, pemupukan dan penyemprotan pestisida. Pemupukan dilakukan dengan cara pengocoran menggunakan pupuk N-P- K 16:16:16 dengan konsentrasi 5 – 10 g L<sup>-1</sup> dan dosis 125 – 250 mL per lubang tanam yang diberikan pada 14 HST, 30 HST, dan 45 HST. Penyemprotan pestisida dilakukan 1 minggu sekali, menggunakan fungisida dan bakterisida dengan konsentrasi 1 – 2 g L<sup>-1</sup> dan dosis 125 – 250 ml per lubang tanam. Penyiangan dilakukan minimal 1 minggu sekali dan pemanenan dilakukan setelah batang daun bawang merah agak layu. Pengambilan data dilakukan pada saat kegiatan pemeliharaan dan setelah pemanenan dilakukan.

### 3.3.3.4 Pengamatan

Beberapa karakter yang diamati dalam penelitian ini yakni, jumlah tanaman hidup, diamati pada 4 (minggu setelah penanaman) MST yang kemudian digunakan untuk mencari nilai LC<sub>50</sub> dan analisa sitologi jumlah kromosom pada 7 hari setelah perendaman dengan kolkisina.

### 3.3.3.5 Analisa Data

Analisa data diolah dengan menggunakan *software* Curvit Expert pada data umbi atau tanaman hidup 4 MST. Umbi yang telah diberi perlakuan kolkisina kemudian ditumbuhkan dan dipotong akarnya kemudian dilakukan preparasi preparat metode tanpa pra-perlakuan (Syukur *et al.* 2015). Pengamatan dilakukan mulai jam 07.00-09.00 saat proses metafase bawang merah terjadi. Jumlah dan ukuran sel diamati dengan mikroskop binokuler perbesaran 4x10.



### 3.4 Hasil dan Pembahasan

#### 3.4.1 LC50 Umbi Bawang Merah Terhadap Kolkisina

Resistensi terhadap suatu perlakuan mutasi dapat dihitung melalui persentasi kematian suatu sampel atau banyaknya sampel percobaan yang mampu bertahan hidup yang disebut juga dengan *lethal dosage* (LD) atau *lethal concentration* (LC). Lethal dosage biasanya diistilahkan untuk perlakuan mutasi secara fisik akibat paparan sinar X, sinar gamma, sedangkan kematian mutasi akibat bahan-bahan kimia disebut *Lethal concentration*. Keragaman dan mutan terbanyak pada kegiatan induksi mutasi dihasilkan disekitar nilai lethal dosis maupun konsentrasi dan seringkali dosis atau konsentrasi optimal yaitu pada nilai LD<sub>50</sub> atau LC<sub>50</sub> (Aisyah *et al.* 2009, Kurtar *et al.* 2017). LD<sub>50</sub> atau LC<sub>50</sub> merupakan dosis atau konsentrasi dimana setengah dari sampel yang terpapar mati, dimana nilainya dicari dengan menghubungkan nilai dosis iradiasi dengan persen tanaman hidup. Nilai dosis semi-lethal (LD<sub>50</sub>) dihitung dengan menggunakan analisa garis regresi  $y = ax + b$ , dimana  $y$  adalah respon variable,  $X$  adalah variable bebas (dosis),  $a$  dan  $b$  mewakili slope dan konstanta, secara berturut-turut (Baran 2014, Kurtar *et al.* 2017).

Tabel 3 Persentase umbi hidup, persamaan dan nilai LC<sub>50</sub>

Konsentrasi (%)	Lama Perendaman (Jam)	Umbi hidup (%)	Persamaan linier	LC <sub>50</sub> (%)
0,01	0	100	$y = 21,967x + 3,0305$	0,1277
	3	89		
	6	96		
	12	30		
0,02	24	48		
	3	96		
	6	85		
	12	96		
0,05	24	56		
	3	89		
	6	107		
	12	59		
0,1	24	0		
	3	81		
	6	74		
	12	22		
0,2	24	0		
	3	41		
	6	41		
	12	0		
	24	0		

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa terdapat penurunan persentase umbi hidup setelah perlakuan kolkisina. Penurunan daya hidup umbi bawang merah varietas Rubaru pada konsentrasi 0.1% dan lama perendaman 12 jam.

Hak Cipta Ditinjau Ulangi

1. Diarangi mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Diarangi mengemukakan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Penurunan lebih signifikan terjadi saat lama perendaman 24 jam diseluruh konsentrasi dan pada konsentrasi 0,2% diseluruh perlakuan lama perendaman.

Hasil induksi poliploid dengan kolkisina menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi kolkisina menghasilkan tinggi tanaman dan jumlah daun yang lebih rendah dibandingkan perlakuan kontrol. Perlakuan pemberian kolkisina menyebabkan diameter daun menjadi lebih besar, warna daun lebih hijau, dan lebih tebal. Menurut Griffith *et al.* (1999) meningkatnya ukuran sel sehingga mengakibatkan daun menjadi lebih tebal merupakan salah satu ciri fisik tunas poliploid yang umum.

Perendaman kolkisina pada perlakuan 0,01, 0,02, 0,05, 0,1 dan 0,2% diduga menyebabkan peningkatan jumlah kromosom tanaman bawang merah sehingga menyebabkan ukuran sel bawang merah menjadi lebih besar, terlihat dari ukuran akar dan daun bawang merah (Gambar 4). Hal ini menyebabkan diameter daun menjadi lebih besar dibandingkan perlakuan kontrol. Namun demikian, adanya peningkatan jumlah kromosom tersebut diduga tidak mampu ditampung oleh sel tanaman bawang merah sehingga menyebabkan terganggunya pertumbuhan bawang merah yang akhirnya menyebabkan lebih rendahnya tinggi tanaman dan jumlah daun bawang merah pada perlakuan dibandingkan perlakuan kontrol. Kolkisina menyebabkan terhambatnya pertumbuhan akibat jaringan yang rusak sehingga tanaman memerlukan waktu lebih lama untuk tumbuh (Damayanti dan Mariska 2003). Lamanya pertumbuhan tanaman juga diakibatkan oleh besarnya jumlah kromosom dari kromosom awal. Suryo (2007) menyatakan jumlah kromosom yang mengganda juga menyebabkan pembelahan sel menjadi lambat.

Seluruh populasi M1V1 pada akhir pengamatan tidak menampakkan hasil adanya umbi yang terploidisasi. Tanaman yang bertambah ploidinya sebagian besar mati pada minggu ke 3 dan 4, hasil dari perendaman juga terlihat sebagian akar memiliki dua jenis akar, akar tetra dan diploid dalam satu umbi. Hal ini disebabkan adanya proses *diploitic selection* atau kompetisi pada sel-sel mutan dan sel-sel normal. *Diploitic selection* merupakan persaingan antara sel-sel diploid dalam organisme multiselular yang terjadi hanya ketika mutasi dominan atau perubahan dominan lainnya pada jaringan meristem (Klekowski 2003, Redei 2008).

Hasil analisa kromosom akar bawang merah menunjukkan umbi bawang merah dengan perlakuan kolkisin, memiliki dua jenis kromosom, yakni memiliki jumlah kromosom yang sama dengan umbi bawang merah tanpa perlakuan kolkisina yaitu  $2n = 2x = 16$  serta kromosom serta kromosom tetraploid. Hal ini diduga karena adanya proses *diploitic selection*, sehingga terdapat dua jenis kromosom yang semakin lama akan menjadi kromosom normal. Selain itu, faktor penentu keberhasilan induksi poliploid antara lain media, agen antimitosis, jenis eksplan yang digunakan, konsentrasi yang digunakan dan lamanya paparan penginduksi mutasi (Dhooghe *et al.* 2011). Tanaman yang mengalami perubahan fisik akibat perlakuan kolkisina seluruhnya mengalami kematian, sehingga penelitian pendugaan parameter genetik tanaman mutan putatif populasi M1V2 pada bawang merah Rubaru melalui umbi tidak dapat dilakukan. Hal ini juga menunjukkan bahwa perbaikan genetik pada bawang merah Rubaru melalui penggandaan kromosom menggunakan mutasi kimia tidak dapat dilakukan pada umbi bawang merah.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

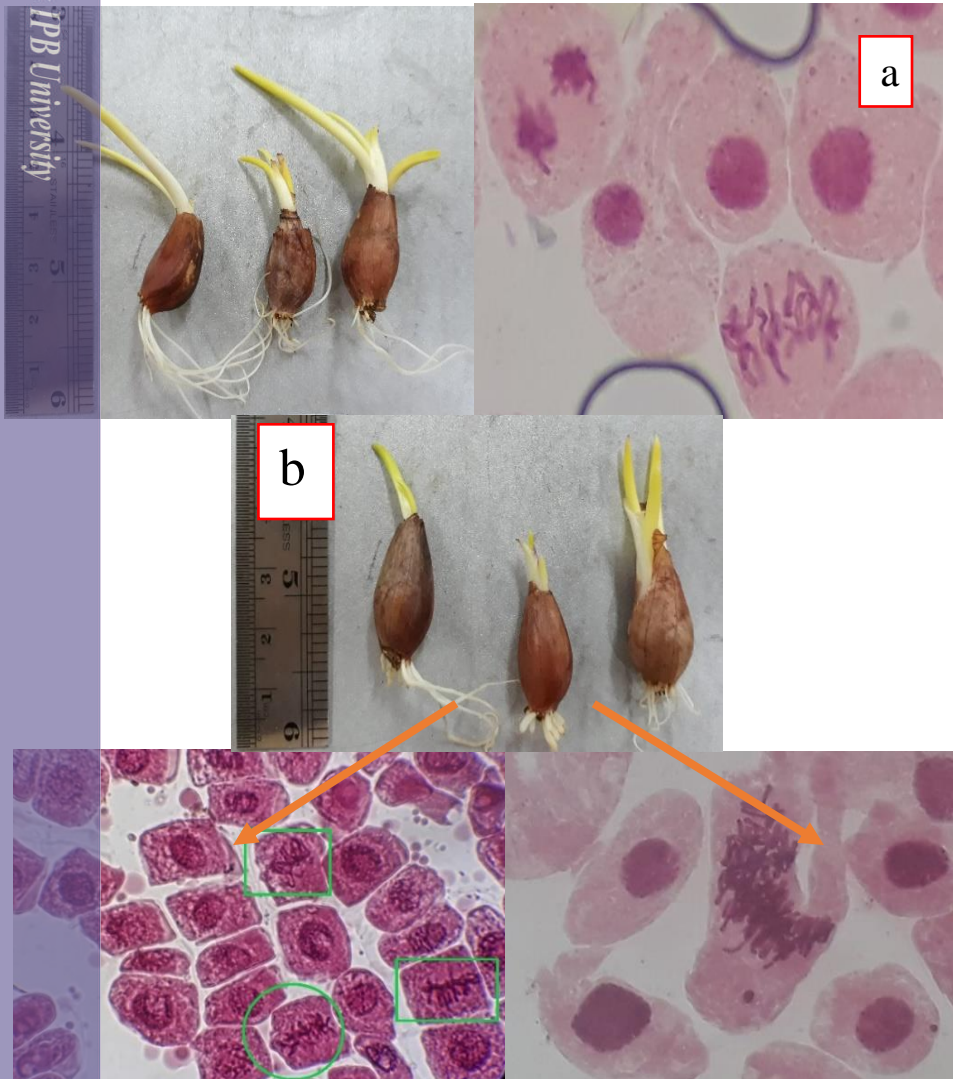


Senada dengan penelitian yang dilakukan oleh Sari (2018), penggunaan umbi sebagai sumber bahan untuk perlakuan mutasi menggunakan kolkisina pada bawang merah varietas Bima Brebes juga tidak diperoleh hasil umbi poliploid pada generasi M1V1. Namun diperoleh umbi poliploid hasil penggandaan kromosom dengan menggunakan benih *true shallot seed* (TSS), sehingga penggunaan TSS lebih disarankan dalam usaha mutasi menggunakan mutagen kimia untuk bawang merah yang menghasilkan bunga. Sedangkan untuk varietas Rubaru yang tidak dapat menghasilkan bunga, fusi protoplas dapat digunakan untuk menjadi pilihan pemuliaan pada varietas bawang merah Rubaru.

©Hidayat, dkk. | Jurnal Ilmiah IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkannya dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



Gambar 4 Kromosom umbi bawang merah Rubaru 7 HSP. (a) umbi dan kromosom diploid (b) umbi dan kromosom poliploid. Tanda panah menunjukkan akar dari umbi pada gambar b, kotak hijau: kromosom diploid, lingkaran hijau: kromosom tetraploid.

### 3.5 Simpulan

Nilai *Lethal concentration 50* ( $LC_{50}$ ) dari hasil perendaman umbi bawang pada berbagai konsentrasi kolkisina yaitu 0,1277%, pada konsentrasi tersebut, lima puluh persen tanaman atau umbi bawang merah bertahan hidup. Tanaman-tanaman yang hidup dan menunjukkan perubahan morfologi akibat peningkatan ploidi dalam satu umbi, tidak keseluruhannya mengalami perubahan ploidi, sehingga terjadi proses *diplontic selection*, sel-sel mutan yang memiliki ploidi lebih tinggi kalah dengan sel-sel normal atau sel diploid, sehingga tidak didapatkan tanaman M1V1.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

## IV ISOLASI DAN ANALISA EKSPRESI GEN *FLOWERING LOCUS T-2* PADA BAWANG MERAH

### 4.1 Abstrak

#### Abstrak

Pembungaan pada bawang merah penting untuk mentransfer sifat-sifat penting pada bawang merah seperti ketahanan terhadap serangan *Fusarium oxysporum* dan antraknosa, serta toleran terhadap salinitas. Namun, kemampuan berbunga bawang merah sangat beragam, sehingga penting untuk mengidentifikasi mekanisme pembungaan dan gen yang mengaturnya, salah satunya yaitu gen *AcFT2*. Tujuan penelitian ini adalah untuk memperoleh informasi sekuens gen *AcFT2* dan mempelajari ekspresi relatif gen *AcFT2* dan korelasinya terhadap pembungaan. Dua varietas bawang merah Lokananta dan Bima Brebes diberi perlakuan vernalisasi pada suhu 8 °C selama 6 minggu dan tanpa perlakuan vernalisasi, kemudian ditanam hingga 30 hari. Sekuen gen *AcFT2* dari kelima varietas bawang merah dianalisa dengan perangkat lunak *Geneious* dan *MEGA X*. Analisa ekspresi gen *AcFT2* like shallot menggunakan metode qRT-PCR. Hasil menunjukkan bahwa Gen *AcFT2* like shallot yang diperoleh dari kelima varietas bawang merah memiliki homologi yang tinggi dengan gen *FT* tanaman-tanaman lain terutama dengan genus *Allium*. Terdapat korelasi nyata antara ekspresi relatif gen *AcFT2* like shallot pada kedua varietas bawang merah. Lokananta menunjukkan ekspresi gen yang lebih tinggi dan didukung dengan kemampuan berbunganya yang lebih tinggi dibandingkan dengan Bima Brebes. Kata kunci: vernalisasi, qRT-PCR, ekspresi gen.

#### Abstract

Flowering in shallot is important for transferring its important traits such as resistance to *Fusarium oxysporum* and anthracnose attack, and tolerance to salinity. The flowering ability of shallots is very diverse. So, it is necessary to identify the flowering mechanism and the genes regulate it, one of them is *AcFT2* gene. This research aimed to obtain information on the *AcFT2* gene sequence and to study the relative expression of the *AcFT2* gene and its correlation to flowering in shallots under vernalized and non-vernalized treatment conditions. Two varieties of Lokananta and Bima Brebes shallots were given vernalization treatment at 8 °C for 6 weeks and without vernalization treatment, then planted for up to 30 days. The *AcFT2* gene sequence generated from the five shallot varieties analyzed using *Geneious* and *MEGA-X* software. Gene expression analysis was using the qRT-PCR method. The results showed that the *AcFT2*-like shallot gene obtained had high homology with the *FT* gene of other plants, especially the *Allium* genus. There is a significant correlation between the relative expression of the *AcFT2* like shallot gene in the two shallot varieties. Lokananta shows higher gene expression and is supported by its higher flowering ability compared to Bima Brebes.

Keywords: vernalisation, qRT-PCR, gene expression

## 4.2 Pendahuluan

Bawang merah (*Allium cepa* var. *aggregatum*) merupakan bagian dari genus *Allium* yang memiliki ukuran umbi relatif lebih kecil dibandingkan bawang bombai (*common onion*, *Allium cepa*). Bawang merah adalah sayuran obat dan bergizi penting yang banyak dikonsumsi dan dibudidayakan di Asia, Afrika, dan sebagian kecil di beberapa negara di Eropa dan Amerika (Assefa *et al.* 2016; Major *et al.* 2018). Produksi terbesar bawang (Bawang bombai, bawang merah, dan bawang daun) yaitu dari Cina, India, dan Pakistan dengan produksi lebih dari 20 juta ton, mencakup 84% total produksi dunia. Produksi tersebut diikuti oleh Jepang, Korea Selatan, Banglades, Indonesia, Mali dan New Zealand (FAOSTAT 2020; Globaltrade 2020).

Bawang merah memiliki karakter-karakter penting untuk peningkatan kualitas bawang seperti ketahanan terhadap penyakit fusarium dan antraknosa, serta toleran terhadap cekaman salinitas (Galvan *et al.* 1997, Sintaheyu *et al.* 2011; Aprilia *et al.* 2020; Syamsyiah *et al.* 2020). Sebagian besar petani bawang merah masih menggunakan umbi benih sebagai perbanyakan tanaman, dibandingkan dengan biji botani atau *true shallot seed* yang memiliki berbagai kelebihan. Kelebihan tersebut yaitu benih bebas penyakit dan virus, kebutuhan benih perhektar rendah, mudah didistribusikan, mengurangi biaya produksi, produksi yang lebih tinggi dengan umbi yang lebih besar dan bebas penyakit (Palupi *et al.* 2017; Askhari-Khorasgani and Pessarakli 2019).

Kemampuan berbunga varietas bawang merah sangat beragam dengan presentase yang rendah < 10%, dan 10-30% (Rosliani *et al.* 2005), bahkan beberapa varietas tidak dapat berbunga seperti Palasa dan Rubaru (Idhan *et al.* 2015; Marlin *et al.* 2018). Varietas lain memerlukan perlakuan tambahan untuk menginisiasi pembungaan melalui penambahan asam gibberilin, vernalisasi, dan paparan terhadap fotoperiod hari panjang (Shopa *et al.* 2014; Pramukyana *et al.* 2018). Perbedaan kemampuan dan waktu berbunga tersebut menyulitkan untuk produksi benih TSS pada beberapa varietas maupun persilangan antar varietas.

Pemahaman terkait mekanisme pembungaan beserta gen-gen nya pada berbagai varietas bawang penting untuk proses persilangan tanaman maupun produksi TSS. Gen *FLOWERING LOCUS T (FT)* merupakan florigen (hormon pembungaan) penting pada mekanisme pembungaan yang ditemukan di *A. thaliana* dan ortolognya di hampir semua tingkat tanaman (Meng *et al.* 2011; Lee *et al.* 2013; Zheng *et al.* 2016). Ekspresi berlebih dari gen *FT* pada tanaman transgenik menyebabkan pembungaan awal pada hari pendek dan panjang. Mutan dari gen *FT* menyebabkan penundaan dalam proses pembungaan (Komiya *et al.* 2008; Prasiga *et al.* 2019). Gen *FT* yang teridentifikasi pada *Allium cepa double haploid* CUDH2150 adalah *AcFT-1*, 2, 3, 4, 5, 6 dan 7. *AcFT-1* diketahui terlibat dalam pembentukan umbi, *AcFT4* bertindak sebagai penekan pembentukan umbi dengan mencegah peningkatan aktifitas (*up-regulation*) gen *AcFT-1*, sedangkan gen *AcFT-7*, *AcFT-4* terlibat pada pembentukan umbi dan waktu kematangan umbi (Lee *et al.* 2013; Manoharan *et al.* 2016; Lyngkhoi *et al.* 2019). Paparan suhu dingin atau vernalisasi memicu peningkatan aktifitas ekspresi gen *AcFT2* menyebabkan adanya inisiasi pembungaan pada bawang bombai galur CUDH2150 dan terekspresi tinggi pada hari panjang maupun hari pendek (Lee *et al.* 2013).

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



Namun, penelitian-penelitian lain terkait fungsi *AcFT2*, Dalvi *et al.* (2016) menyatakan bahwa ekspresi gen *AcFT2* pada bawang bombai hari pendek kultivar JISL-5 tereksresi kuat pada tahap akhir pembentukan umbi. Penelitian pada bawang bombai yang dilakukan oleh Lyngkhoi *et al.* (2019), menunjukkan bawang merah yang ditanam pada kondisi hari pendek dan hari panjang, ekspresi gen *AcFT2* rendah hingga *date after showing* (DAS)-60 dan meningkat pada DAS ke 75. Gen ini tidak terdeteksi pada varietas bawang bombai hari panjang “Renate” namun terdeteksi pada varietas hari pendek “Hojem”, yang ekspresinya mirip dengan ekspresi gen *AcFT1* selama tahap perkembangan dan kematangan umbi di lama penyinaran 12 jam (*long day*, LD) dan secara signifikan, fungsional gen *AcFT2* secara jelas belum diketahui (Rashid *et al.* 2019).

Selain itu, meskipun penelitian tentang efek vernalisasi telah dilakukan di beberapa varietas bawang merah Indonesia (Khokhar *et al.* 2007; Palupi *et al.* 2017; Marlin *et al.* 2018), namun studi terhadap sikuen dan ekspresi *AcFT2* *Allium cepa* var. *aggregatum* pada proses vernalisasi belum pernah dilakukan sebelumnya. Hal tersebut menjadikan pentingnya penelitian lebih lanjut untuk memahami fungsi gen *AcFT2*. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh informasi keberadaan sikuen gen *AcFT2* dan mempelajari ekspresi kuantitatif gen *AcFT2* pada bawang merah varietas Lokananta dan Bima Brebes di bawah perlakuan vernalisasi dan non-vernalisasi.

### 4.3 Metode

#### 4.3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Percobaan studi ekspresi gen dilakukan di kebun percobaan Pusat Kajian Hortikultura Tropika (PKHT)-IPB, Tajur, Bogor pada bulan Agustus-September 2019 untuk penanaman bawang merah. Isolasi gen dan analisa ekspresi gen metode *quantitative real-time polymerase chain reaction* (qRT-PCR) dilakukan di Laboratorium *Horticulture*, Universitas Gifu, Jepang, pada bulan Oktober 2019-Juli 2020. Kondisi cuaca penanaman berdasarkan data stasiun Citeko, Bogor di sajikan pada Tabel 4.

Tabel 4 Kondisi cuaca penanaman bawang merah di Bogor, Indonesia tahun 2019

Parameter (X)	Bulan-	
	Agustus	September
Temperatur (°C)	21,00	21,70
Fotoperiod (jam)	11,53	12,31

Sumber: BMKG (2020).

#### 4.3.2 Alat dan Bahan

Bahan genetik yang digunakan yaitu, lima varietas bawang merah, Lokananta, Bima Brebes, Rubaru, Palasa, dan Biru Lancor. Bahan penanaman dan pemeliharaan seperti tanah komposit, fungisida dan bakterisida. Peralatan yang digunakan yaitu peralatan sarana produksi pertanian.

#### 4.3.3 Prosedur Kerja

##### 4.3.3.1 Persiapan Sampel

Bawang merah varietas Lokananta, Bima Brebes, Rubaru, Palasa, dan Biru Lancor diberi perlakuan vernalisasi (paparan terhadap suhu rendah) selama enam

Hak cipta dilindungi Undang-undang  
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :  
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.  
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



minggu pada suhu 8 °C dan tanpa perlakuan vernalisasi. Sampel kelima varietas bawang merah ditanam pada bedengan di kebun percobaan PKHT Tajur dengan jumlah 20 umbi untuk masing-masing varietas. Sampel untuk analisa uji ekspresi gen diambil dari tanaman bawang pada umur 30 hari setelah tanam. Sampel di ambil pada bagian meristem antara daun dan batang semu umbi sebelum calon *inflorescence* muncul karena pada bagian tersebut ekspresi gen *AcFT2* pada bawang bombai terekspresi tinggi (Lee *et al.* 2013) dan disimpan dalam larutan RNA *-later* untuk menjaga RNA pada jaringan untuk di isolasi dikemudian hari.

#### 4.3.3.2 Isolasi RNA Total

RNA total diisolasi dengan menggunakan TRIzol® reagent (Invitrogen, USA). Sebanyak 800 µl larutan TRIzol dimasukkan ke dalam tabung mikro 1.5 ml. Daun tanaman bawang dimasukkan ke dalam mortar, ditambah nitrogen cair, kemudian digerus sampai menjadi serbuk halus. Serbuk dimasukkan ke dalam tabung mikro yang berisi larutan TRIzol, kemudian ditambah dengan 200 µl kloroform, dibolak-balik dan diinkubasi pada suhu ruang selama 3 menit. Suspensi disentrifugasi pada kecepatan 10000 rpm selama 10 menit pada suhu 4 °C. Supernatan diambil dan dipindahkan ke dalam tabung yang baru, ditambah isopropanol sebanyak 1 x volume supernatan kemudian divortex dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu ruang. Suspensi disentrifugasi pada kecepatan 10000 rpm selama 10 menit pada suhu 4 °C, kemudian supernatan dibuang hingga diperoleh endapan. Endapan dicuci dengan cara menambahkan 500 µl etanol 70% dan disentrifugasi pada kecepatan 10000 rpm selama 5 menit pada suhu 4 °C. Supernatan dibuang, kemudian endapan dikeringkan pada suhu ruang selama 5 menit. Endapan yang sudah kering ditambah dengan 15 µl air yang diperlakukan dengan diethyl pirocarbonate (DEPC treated water) dan diinkubasi pada suhu 60 °C selama 10 menit.

Perlakuan DNase dilakukan untuk menghilangkan kontaminasi DNA pada RNA Total menggunakan kit Recombinant DNase I (RNase-free) (Takara Bio Inc, Dalian, Japan) berdasarkan instruksi dengan modifikasi untuk mendapatkan kualitas RNA yang tinggi. Kualitas dan kuantitas total RNA ditentukan dengan menggunakan Nanovue (GE Lifecare Health Science, Japan).

Sintesis cDNA disintesis menggunakan kit PrimeScript™ RT Master Mix Perfect Real Time (Takara Bio Inc., Dalian, Japan), dengan campuran 5x PrimeScript RT Master Mix Perfect Real Time 2 µl, total RNA hingga 500ng dalam 10µl larutan reaksi dan RNase free dH2O hingga 10µl. campuran larutan kemudian direverse-transkripsikan pada 37 °C 15 menit (*reverse-transcription*), 85 °C 5 detik (pemanasan inaktivasi *reverse transcription*), dan diakhiri pada suhu 4 °C.

#### 4.3.3.3 Desain Primer dan Isolasi Gen *FT2*

Primer yang digunakan dari referensi Lyngkhoi *et.al* (2019) dan Manoharan *et.al* (2016) tidak dapat mengamplifikasi sikuen gen target *FT Locus* pada bawang merah, sehingga dilakukan proses desain primer baru. Desain pasangan primer baru didasarkan pada gen *AcFT2* hasil penelitian Lee *et al.* (2013) dari *double haploid* bawang bombai galur CUDH2150. Desain primer menggunakan primer 3.0 (<http://www.bioinformatics.nl/cgi-bin/primer3plus/primer3plusHelp.cgi>).

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



Hak Cipta © 2019 IPB University

Proses *polymerase chain reaction* (PCR) dilakukan dengan menggunakan menggunakan cDNA bawang merah dengan vernalisasi varietas Lokananta, Bima Brebes, Rubaru, Palasa, dan Biru Lancor ditambah kit KOD Neo FX. Proses PCR dilakukan dengan mesin Takara , tahap PCR yaitu predenaturasi 94 °C 2 menit, 40 siklus denaturasi 98 °C selama 10 detik, annealing 60 °C selama 30 detik, dan extension 68 °C selama 10 detik, suhu akhir proses PCR 4 °C. Hasil PCR kemudian dielektroforasi dengan agarose 3% 100 V selama 30 menit dalam buffer TBE 1M. Hasil elektroforesis pada gel agarose kemudian dipurifikasi menggunakan Nucleospin® *Gel and PCR Cleaning* kit, menambahkan 200 uL NT1 per 100 mg gel, kemudian inkubasi selama 5-10 menit pada 50 °C di hot-plate dan dibolak-balik selama 2-3 menit hingga potongan gel larut. 700 uL sampel yang telah larut dipipet kedalam kolom Nucleospin® *Gel and PCR Cleaning* yang diletakkan di tube 2 ml, kemudian di sentrifuse pada 11000 rpm 30 detik suhu ruang untuk proses pengikatan DNA. Pembasuhan membran silika dilakukan dengan menambahkan 700 uL buffer NT3 ke dalam kolom Nucleospin® *Gel and PCR Cleaning* dan sentrifuse pada 11 000 rpm 30 detik suhu ruang kemudian buang larutan pada tube 2 ml diulang dua kali untuk meminimalisir rendahnya nilai A260/A230. Pengeringan membran silika dilakukan dengan sentrifuse pada 11000 rpm 1 menit untuk membuang sisa bufer NT3 dan diinkubasi selama 2-5 menit pada suhu 70°C. kolom kolom Nucleospin® *Gel and PCR Cleaning* diletakkan ke tube 1.5 ml baru kemudian ditambahkan 15-30 uL bufer NE dan diinkubasi pada suhu ruang selama 1 menit, kemudian disentrifuse pada 11 000 rpm 1 menit.

#### 4.3.3.4 Analisa Ekspresi Gen dengan Metode Kuantitatif *Real Time Polymerase Chain Reaction* (qRT-PCR)

Sampel cDNA bawang merah yang digunakan untuk analisa ekspresi gen dengan qRT-PCR adalah varietas Lokananta dan Bima Brebes dengan perlakuan vernalisasi dan tanpa vernalisasi. Pasangan primer qRT-PCR didesain dari gen *AcFT2* like shallot yang didapatkan dari hasil isolasi gen sebelumnya. pasangan primer gen *housekeeping* yakni *AcTUB* (AA451529) diambil dari referensi Rashid *et al.* (2019) sebagai referensi internal untuk menormalkan data ekspresi. Kit PCR yaitu Prime script SYBR Green I master mix (Takara Bio Inc., Jepang) 12,5 uL terdiri dari SYBR Premix Ex Taq II (2x) 6.5 uL, primer mix 10 uM 0.5 uL (konsentrasi akhir 0.2 uM), cDNA solution 2.5 uL, dH2O 3 uL. qPCR dilakukan menggunakan mesin Takara Dice Real Time (Takara Bio Inc., Jepang) dengan tahapan denaturasi awal pada 95 °C 3 menit, diikuti oleh 40 siklus pada 95 °C 30 detik, 55 °C 30 detik, 72 °C 1 menit dan ekstensi 72 °C 5 menit. Data ekspresi gen dievaluasi menggunakan standar deviasi (Zhou *et al.* 2017). Data yang digunakan hanya saat *diassociation curve* satu puncak dan efisiensi kurva standar antara 80-120%.

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Tabel 5 Primer-primer isolasi gen dan analisa qPCR *AcFT2*

Primer	Sikuen (5'-3')	Target (bp)
Isolasi gen <i>AcFT2</i>	F:CGGTTGGGTAGAGTAGTGGG R:TAAAGAGCAGCAACCGGAGA	455
qRT-PCR <i>AcFT2</i> -like shallot	F:GAATTGAAATTGGCGGCGGT R:CTGGAAGCACAAGTGCAAGC	143
<i>Ac Tubulin</i>	F:GTCTTCAGAGGCAAGATGAGCAC R:TCAGTCCAGTAGGAGGAATGTCTC	138

#### 4.4 Hasil dan Pembahasan

##### 4.4.1 Analisa Bioinformatik Gen *FLOWERING LOCUS T Allium cepa* var. *aggregatum (AcFT2 like shallot)*

Fragmen DNA spesifik 455 bp berhasil diamplifikasi dari 5 sampel cDNA bawang merah, Lokananta, Bima Brebes, Rubaru, Palasa, dan Biru Lancor Tabel 6. Hasil sikuensing kelima fragmen tersebut kemudian diedit menggunakan *software Geneious* dan disejajarkan untuk mendapatkan kemiripan basa DNA dengan gen *FT* lainnya untuk mendapatkan rangkaian sikuens parsial *AcFT2* bawang merah. Sikuen kemudian di *blast* di NCBI dan kemudian digunakan untuk mendesain primer qPCR.

Tabel 6 Hasil contig sikuen dari lima fragmen *AcFT2* bawang merah Indonesia

Fragmen <i>AcFT2</i>	Panjang sikuen			Asam amino (aa)
	Nukleotida (bp)			
	Forward	Reverse	Contig	
Lokananta	427	419	447	148
Bima Brebes	426	419	446	148
Rubaru	425	425	457	151
Palasa	424	420	456	151
Biru Lancor	425	422	460	152

Hasil *blast* kelima sikuen gen parsial *AcFT2 like shallot* (Tabel 7) menunjukkan adanya homologi yang tinggi dengan *Allium cepa* kultivar CUDH2150 (KC485349.1) 99,34–100 %, dan *Allium sativum* lokus berbunga T mRNA (KP711810.1) 92,76–93,38%. Homologi dengan gen *FT* tanaman lain, *Asparagus officinalis* (73,6%) adalah kategori homologi sedang. Ini menunjukkan bahwa gen *AcFT2 like shallot* terkonservasi di antara tanaman yang berbeda.

Tabel 7 Identitas sikuen antara asam amino prediksi sampel tanaman bawang merah dengan asam amino *FT2* di *GeneBank*

Fragmen gen <i>AcFT2</i> like shallot	Aksesi di <i>GeneBank</i>			
	<i>FT2 A. cepa</i> (AGZ20208.1)	<i>FT A. sativum</i> (AKJ54481.1)	<i>Hd3a Asparagus officinalis</i> (XP_020267911.1)	<i>FT-like protein A. cepa</i> (AGO81838.1)
Lokananta	100%	93,24%	75,51%	72,79%
Bima Brebes	100%	93,24%	75,51%	72,79%



Fragmen gen <i>AcFT2</i> like shallot	Akses di GeneBank			
	<i>FT2 A. cepa</i> (AGZ20208.1)	<i>FT A. sativum</i> (AKJ54481.1)	<i>Hd3a Asparagus officinalis</i> (XP_020267911.1)	<i>FT-like protein A. cepa</i> (AGO81838.1)
Rubaru	100%	93,38%	75,33%	72,67%
Palasa	100%	93,29%	75,68%	72,97%
Biru Lancor	99.34%	92,76%	75,33%	72,67%

Sikuen nukleotida parsial gen *AcFT2* like shallot kelima varietas bawang merah memiliki tingkat homologi yang tinggi dengan gen referensi, *AcFT2* CUDH2150 dan juga gen pembungaan dari tanaman lain. Berdasarkan hasil *blast* nukleotida (*blastn* NCBI) menunjukkan tingkat homologi dengan *Allium cepa* kultivar CUDH2150 (KC485349.1) 99,56%, *Allium cepa* klon gen Pool2 *FT2* (KC677640.1) 99,44%, *Allium sativum flowering locus T* mRNA (KP711810.1) 90.97%, *Hd3a Asparagus officinalis* (73,6%).



Gambar 5 Pensejajaran sikuen nukleotida parsial putatif *AcFT2* lima varietas bawang merah

Hasil pengelompokan dari pohon filogenetik (Gambar 6) menunjukkan jika *AcFT2* kelima varietas mengelompok dengan *FT2 A. cepa* didukung dengan tingkat homologi yang tinggi antara sikuen nukleotida *AcFT2* kelima varietas dengan sikuen nukleotida gen referensi, *AcFT2 A. cepa*, (Gambar 5). Perbedaan satu basa nitrogen T ke-71 yang dimiliki oleh gen *AcFT2* like shallot Bima Brebes berimplikasi pada jarak kekerabatannya dengan gen *AcFT2* like shallot dari varietas Lokananta, Palasa, Rubaru, dan Bima Brebes yang lebih dekat jarak kekerabatannya dengan gen referensi *AcFT2* galur CUDH2150

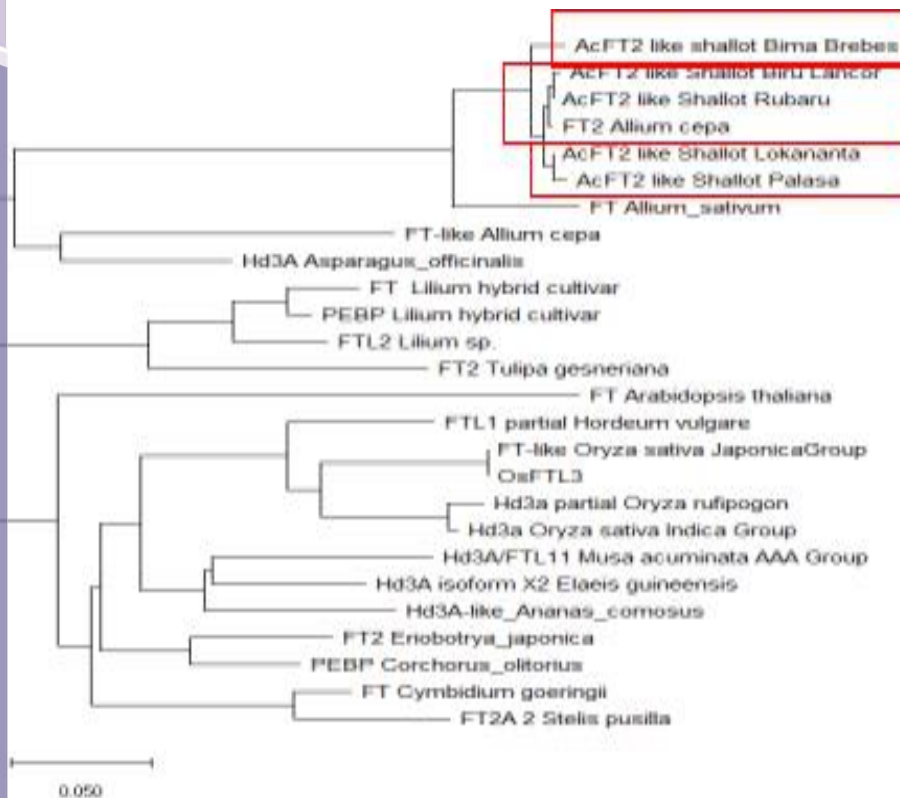
1. Diarangi mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Diarangi mengemukakan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

@Hak cipta milik IPB University



Gambar 6 Pohon Filogenetik *Allium cepa* Flowering Locus T-2 (*AcFT2*) like shallot dari ke-lima varietas dengan protein *FT*, dan *Hd3a* tanaman lain. Keterangan: kotak merah menunjukkan perbedaan pengelompokan *AcFT2* like shallot dari kelima varietas bawang merah

Keterlibatan gen *AcFT2* like shallot kelima varietas bawang merah dalam aktivitas pembungaan ditunjukkan dengan hasil pensejajaran protein gen putative parsial kelima varietas dengan protein dari *A. thaliana* dan keluarga *Allium* lainnya seperti *A. cepa* dan *A. sativum* serta *Hd3a Asparagus officinalis* (Gambar 7). Pensejajaran sikuen asam amino gen *AcFT2* like shallot dengan gen PEBP lain dari tanaman lain menunjukkan kunci residu asam amino yang menentukan fungsi *FT*-like.

Gen *FT* termasuk dalam famili PEBP, dimana pada padi, gen homolog *FT*, *Hd3a* berinteraksi dengan protein 14-3-3 dan *OsFD1* membentuk kompleks aktivasi florigen (Taoka *et al.* 2011). Protein 14-3-3 penting karena protein ini ditaut protein PEB (Yang *et al.* 2019). Protein 14-3-3 berperan sebagai penghubung jaringan seluler berbagai jalur sinyal yang berbeda, mentransduksi, dan mengintegrasikan berbagai sinyal hormon pada regulasi proses fisiologis (Camoni *et al.* 2018). Asam amino Tyr (Y) dan Gln (Q) yang teridentifikasi merupakan asam amino kunci pembeda antara gen *FT* dan *TFL*. Asam amino di posisi AA85 (Tyr, Y) dan AA140 (Gln, Q) di *Arabidopsis* menunjukkan residu asam amino yang menentukan fungsi gen *FT* like juga terkonservasi pada protein kelima varietas bawang merah (Wang *et al.* 2018; Zhou *et al.* 2018). Motif terkonservasi DPDxP dan GxHR merupakan domain PEBP yang mengkonformasi antara situs pengikat ligand (*ligand binding site*) seperti yang dikemukakan oleh Karlgren *et al.*

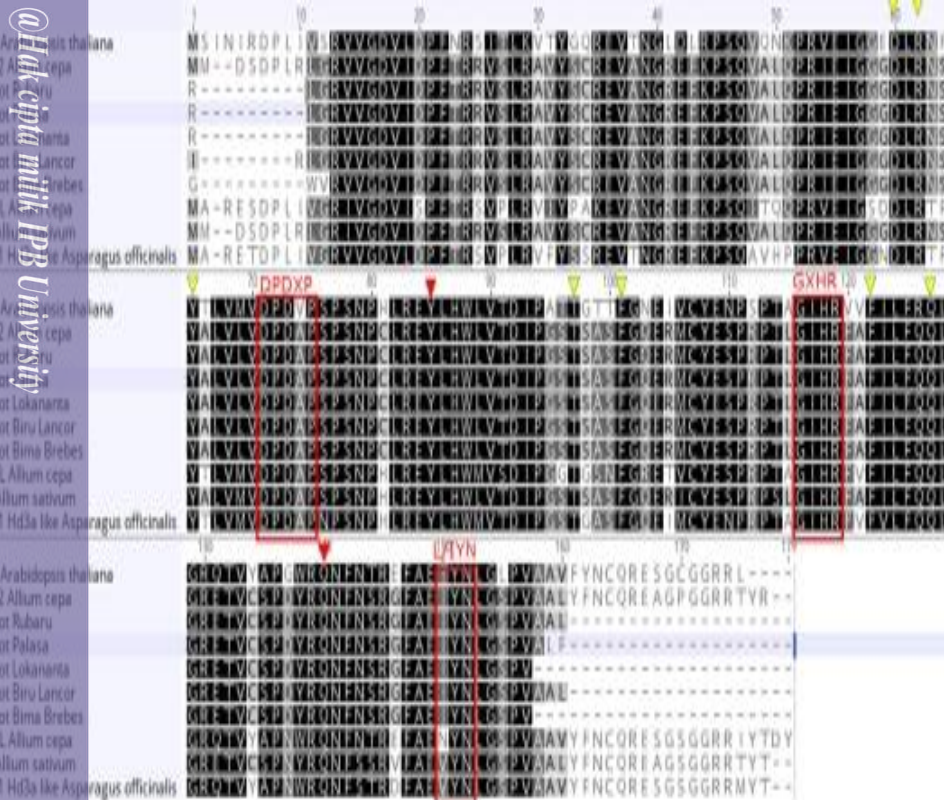
@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



(2011). Sikuen asam amino terkonservasi *loop* 14-aa yang dikenal sebagai 'segmen B' dan 'segmen C', LYN/IYN dalam homolog *FT*, diperlukan untuk aktivitas gen *FT* (Bi *et al.* 2019).



Gambar 7 Penjajaran asam amino *AcFT2 like shallot*. Segitiga merah: residu asam amino kunci yang menentukan fungsi *FT*. Segitiga kuning: residu asam amino yang berinteraksi dengan protein 14-3-3 (Yang *et al.* 2019). Kotak merah: motif DPDxP, GxHR, dan L / IYN (protein pembungaan).

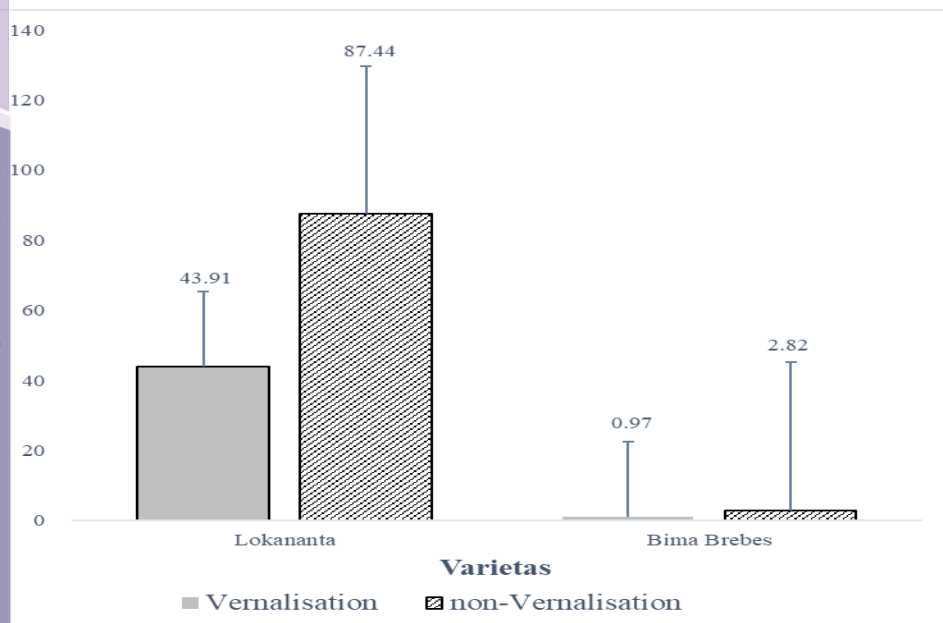
#### 4.4.2 Ekspresi Relatif Gen *AcFT2 like shallot*

Ekspresi relatif gen *AcFT2 like shallot* pada kedua varietas bawang merah (Gambar 8) terekspresi lebih tinggi pada perlakuan tanpa vernalisasi dibandingkan pada perlakuan vernalisasi. Ekspresi gen *AcFT2 like shallot* di varietas Lokananta lebih tinggi dibandingkan varietas Bima Brebes. Meskipun ekspresi gen *AcFT2 like shallot* meningkat pada perlakuan tanpa vernalisasi pada varietas Bima Brebes, namun peningkatan tersebut tidak berbeda dengan perlakuan vernalisasi dan lebih rendah dibandingkan ekspresi pada Lokananta.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :  
 a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
 b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



Gambar 8 Ekspresi relatif *Allium cepa* var. *aggregatum* FLOWERING LOCUS T-2 like (*AcFT-2* like shallot). Bar menunjukkan standar deviasi (n=6).

Berdasarkan hasil dari analisa qPCR, terlihat varietas Lokananta memiliki ekspresi relatif yang tinggi. Rendahnya ekspresi gen *AcFT2* pada varietas Bima Brebes karena varietas ini merupakan varietas yang masuk kategori sukar berbunga (Kementerian Pertanian Republik Indonesia 1984). Analisa korelasi menunjukkan hubungan yang kuat dan signifikan antara ekspresi relatif gen dan jumlah tanaman berbunga dengan nilai  $r = 1$  (Tabel 8).

Tabel 8 Korelasi Pearson ekspresi relative (ER) gen *AcFT2* like shallot terhadap respon berbunga (jumlah umbel bunga)

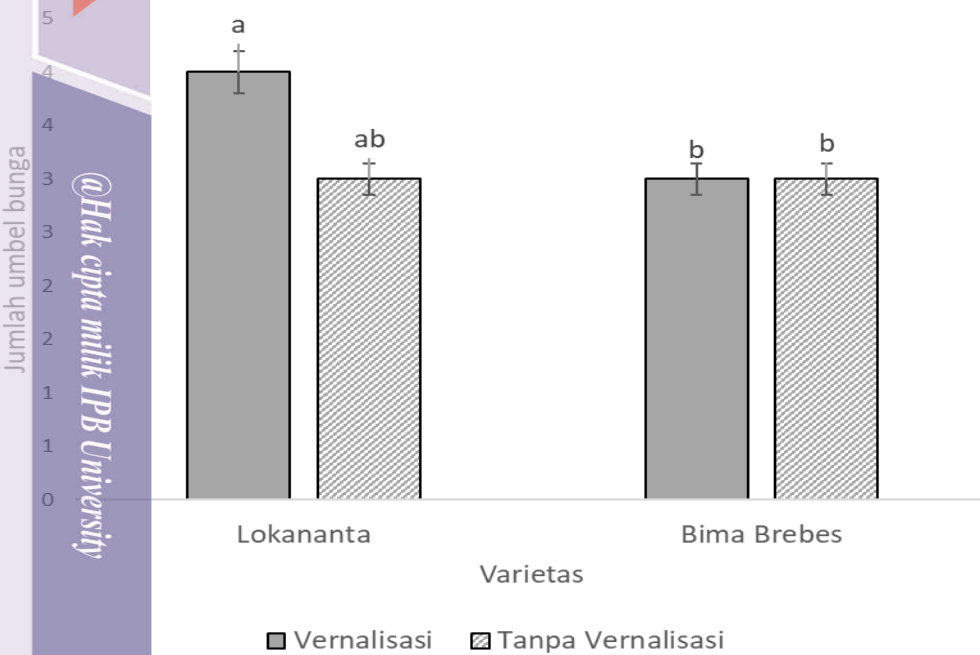
Karakter	ER Vernalisasi	Umbel bunga vernalisasi	Umbel bunga tanpa vernalisasi
Umbel bunga Vernalisasi	1*		
Umbel bunga tanpa vernalisasi	1 *	1*	
ER tanpa vernalisasi	1*	1*	1*

Keterangan: \* Korelasi signifikan pada taraf 0,05%. ER: ekspresi relatif.

Ekspresi gen *AcFT2* yang tinggi pada varietas Lokananta juga ditunjukkan dengan respon pembungaan yang tinggi dibandingkan varietas Bima Brebes (Gambar 9). Kemampuan berbunga varietas Lokananta ini senada dengan tingginya ekspresi gen *AcFT2* like shallot pada Lokananta baik tanpa perlakuan vernalisasi dan vernalisasi.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



Gambar 9 Jumlah umbel bunga bawang merah. Huruf-huruf yang berbeda pada diagram batang menunjukkan perbedaan nyata berdasarkan uji LSD 5%

Gen *AcFT2* like shallot pada bawang merah bekerja terkait pembungaan, hal tersebut terlihat dari ekspresi pada Lokananta, dimana ekspresi yang tinggi pada Lokananta juga ditunjang dengan jumlah umbel pada Lokananta baik pada vernalisasi maupun tanpa vernalisasi. Jumlah umbel bunga pada varietas Bima Brebes baik vernalisasi maupun tanpa vernalisasi tidak berbeda nyata dengan jumlah umbel bunga pada varietas Lokananta (Gambar 9).

Hal ini dikarenakan, meskipun dengan perlakuan vernalisasi dapat mengaktifkan kerja (upregulasi) gen *FT* melalui penekanan kerja gen *FLC* yang menekan sistem kerja *FT*, akan tetapi gen *FT* membutuhkan penyinaran cahaya yang lebih lama. Fotoperiodisitas LD penting setelah vernalisasi untuk meningkatkan pembungaan. Bawang merah dikelompokkan sebagai varietas hari pendek (*short day*, SD) yang hanya membutuhkan cahaya sekitar 10 jam untuk inisiasi umbi (Karim dan Ibrahim 2013, Marlin *et al.* 2018), namun belum jelas berapa jam lama penyinaran yang dibutuhkan untuk inisiasi pembungaan. Selain itu, suhu diatas 20 C meningkatkan munculnya infloresen (Khokhar 2019), namun paparan suhu tinggi, 29 °C siang dan 21 °C malam setelah induksi dengan suhu rendah dapat menghambat proses pembungaan (Brewster 2008).

Fotoperiodisitas selama masa tanam dari bulan Agustus hingga September 2019, berdasarkan data dari BMKG (2020), stasiun meteorologi Citeko, Bogor, yaitu berkisar 11,53-12,31 jam dan suhu udara rata-rata berkisar 21,0-21,7°C. Kondisi tersebut sesuai untuk inisiasi pembungaan setelah proses vernalisasi terbukti dengan berbunganya kultivar Lokananta dan Bima Brebes, namun belum cukup untuk mengaktifkan ekspresi gen *AcFT2* like shallot pada Bima Brebes, selain karena Bima Brebes masuk kategori varietas yang sukar berbunga, juga dikarenakan kebutuhan lama panjang penyinaran cahaya atau fotoperiodisme untuk varietas ini diprediksi lebih lama dibandingkan dengan Lokananta.



Eksresi gen *AcFT2* like shallot berasosiasi dengan fotoperiditas hari panjang untuk menginisiasi pembungaan melalui linieritas produksi karbohidrat dari proses fotosintesis dengan menggerakkan pembukaan stomata lebih lama karena adanya induksi cahaya. Telaah terbaru terkait gen yang terkait pada komponen pembungaan di *A. thaliana* oleh Aoki *et al.* (2019) menyebutkan kondisi LD meningkatkan pembukaan stomata terinduksi cahaya, *SOC1*, faktor transkripsi *downstream FT*, ekspresinya melalui *FT*, dan peningkatan level ekspresi PM H<sup>+</sup>-ATPase isoform, *AHA5*, di sel-sel penjaga. Mekanisme tersebut diperkuat oleh *LD-dependent enhancement* pembuka stomata yang diinduksi oleh cahaya dan H3K4 *tri-methylation* di *SOC1* yang kerjanya ditekan pada *ft-2* mutant.

Wang *et al.* (2014) juga menyatakan jika gen *FT* merupakan regulator positif H<sup>+</sup> ATPase dan sinar biru penginduksi pembukaan stomata. Peningkatan pembukaan stomata pada sel-sel penjaga terjadi karena ekspresi berlebih gen ini, sedangkan mutan *FT* menyebabkan penekanan aktivitas H<sup>+</sup>ATPase. Regulasi transkripsional terlibat pada aktivasi H<sup>+</sup>ATPase di hilir (*downstream*) gen *FT/TSF*.

Dalam mekanisme kerjanya, Gen *FT* berasosiasi dengan gen *GI-CO* melalui jalur fotoperiodisme yang akan mentranskripsi gen penentu pembungaan *AP1* (Jack 2004; Liu *et al.* 2015). Gen *CONSTANT (CO)* dimediasi oleh *GI* meregulasi jumlah transkrip gen *FT*, dimana gen ini terakumulasi pada akhir hari penyinaran dan bekerja secara alami dibawah kondisi hari panjang (LD). Gen *CO* bukan hanya menginduksi pembungaan melauai pengaktifan transkripsional *FT*, akan tetapi juga melalui induksi transporter *FT* yang dibutuhkan untuk mengangkut protein *FT* dari daun ke ujung pucuk meristem tanaman (Samach *et al.* 2000; Khan *et al.*, 2013; Shim *et al.* 2017; Kinoshita dan Richer 2020).

Selain itu, pada mekanisme vernalisasi, ada mekanisme kerja dari gen-gen lain yang perlu diidentifikasi. Gen-gen yang berhubungan dengan mekanisme vernalisasi yakni gen *VRN*, yaitu *VRN1-3*. Gen *VRN1* diproduksi pada daun dan berperan untuk menjaga transkrip rendah dari *VRN2* yang bekerja sebagai penekan pembungaan. Pada mutan *TILLING* gandum, ekspresi *N down-regulated* pada tipe liar dan mutan setelah vernalisasi tetapi *up-regulated* pada mutan *null VRN-1* yang mengakibatkan penundaan pembungaan dengan menekan transkripsi *FT*, hal tersebut menunjukkan bahwa *VRN1* tidak penting untuk pembungaan gandum (Chen dan Dubcovsky 2012). Vernalisasi mendorong transisi meristem apikal dengan meningkatkan ekspresi gen vernalisasi *VRN1* (*AP1* homolog) dengan menekan sistem kerja gen *VRN2* dan mendorong aktivitas *FT*, *FD* dan *SOC1*, sehingga mempercepat proses pembungaan terjadi ketika tanaman dipindahkan ke kondisi yang lebih hangat di bawah paparan cahaya yang mendorong gen *CO* untuk mengaktifkan gen *FDL2* dan gen *VRN3* homolog *FT* (Tresvaskis *et al.* 2007; Khan *et al.* 2013; Kim dan Sung 2014; Liu *et al.* 2015; Zheng *et al.* 2018). Sehingga kemungkinan gen *VRN* lebih terekspresi sesaat setelah perlakuan vernalisasi. Analisis ekspresi *down-regulated VRN2* sebagai gen penekan pembungaan yang menekan aksi gen *FT* pada perlakuan vernalisasi pada bawang merah perlu dilakukan lebih lanjut.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



#### 4.5 Simpulan

455 bp fragmen sikuen gen *AcFT2* like shallot yang didapat dari kelima varietas bawang merah menunjukkan homologi yang tinggi antar varietas bawang merah dan gen referensi *AcFT2* CUDH2150, hanya terdapat perbedaan residu basa nitrogen pada basa ke -71, yakni basa T pada varietas Bima Brebes yang tidak terdapat pada gen *AcFT2* di keempat varietas bawang merah lain dan gen referensi. Residu dan protein dari hasil pensejajaran asam amino sikuen gen *AcFT2* like shallot terkonservasi pada asam amino *FT Arabidopsis thaliana* dan *FT* pada genus *Allium* lainnya menunjukkan fungsi gen pembungaan *FT*. Gen *AcFT2* like shallot pada kelima varietas bawang merah berada dalam satu kelompok. Gen *AcFT2* like shallot empat varietas, Lokananta, Rubaru, Palasa dan Biru Lancar lebih dekat jarak kekerabatannya dengan gen referensi CUDH2150, dibandingkan dengan gen *AcFT2* like shallot Bima Brebes. Ekspresi relatif gen *AcFT2* like shallot pada varietas bawang merah Lokananta dan Bima Brebes berkorelasi terhadap tingkat pembungaan. Varietas Lokananta menunjukkan ekspresi relatif gen dan jumlah umbel bunga yang tinggi dibandingkan dengan Bima Brebes.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

## RESPON PEMBUNGAAN TERHADAP PERBEDAAN PANJANG HARI (FOTOPERIODISME)

### 5.1 Abstrak

#### Abstrak

Bawang merah memiliki kemampuan berbunga yang berbeda-beda pada setiap varietas, sehingga dapat berpengaruh pada proses hibridisasi maupun pemanfaatan biji botani. Pembungaan pada tanaman bawang sangat dipengaruhi oleh lama panjang penyinaran cahaya untuk menghasilkan karbohidrat yang berperan penting pada inisiasi pembungaan. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari respon pembungaan dengan perbedaan fotoperiodisme pada bawang merah. Lima varietas bawang merah, Lokananta, Bima Brebes, Rubaru, Palasa, dan Biru Lancor ditanam di rumah kaca dibawah fotoperiodisme hari pendek dengan lama penyinaran 10 jam pada kondisi alami selama 60 hari, kemudian sebagian tanaman dipindah dibawah perlakuan fotoperiodisme hari panjang, 10 jam cahaya matahari dan 4 jam cahaya lampu *fluorescence*. Suhu pada saat penanaman berkisar antara 7-13 °C. Hasil menunjukkan bahwa fotoperiode hari panjang meningkatkan respon berbunga pada bawang merah pada 120 HST. Varietas Lokananta merupakan varietas yang paling responsif pada pembungaan bahkan pada fotoperiodisme hari pendek. Varietas Palasa yang tidak dapat berbunga di bawah kondisi fotoperiodisme Indonesia, mampu berbunga pada perlakuan hari panjang dan dibawah kondisi penanaman pada suhu rendah hingga sedang.

Kata kunci: hari pendek, hari panjang, hibridisasi

#### Abstract

Differentiation of shallot flowering ability and time in each variety affect the hybridization process and TSS application. Flowering in Shallot family, common onion is greatly influenced by the length of photoperiod to produce carbohydrates which play a significant role in the flowering initiation. This research aimed to study the response of flowering with different photoperiodisms in shallots. Five shallot varieties, Lokananta, Bima Brebes, Rubaru, Palasa, and Biru Lancor were grown in greenhouses under short-day photoperiod with 10 hours of natural condition photoperiod for 60 days, then half of plants were moved under long-day photoperiod treatment, 10 hours of natural condition hotoperiod and 4 hours of fluorescence lamp addition. The temperature during plantation ranges from 7-13 °C. The results indicate that long-day photoperiod increased the shallot flowering response at 120 DAP. Lokananta variety was the most responsive variety to flowering even on short day photoperiod. Palasa variety which could not flower under Indonesian photoperiod condition could produce flower on long-day treatment and underplanting condition at low to moderate temperature.

Keywords: short-day, long-day, hybridization.

## 5.2 Pendahuluan

Peningkatan produksi bawang merah baik secara kualitas dan kuantitas dapat dilakukan melalui persilangan tanaman untuk mentransfer sifat-sifat penting dari satu varietas bawang merah maupun metode *true shallot seed* (TSS) yang memiliki keunggulan biji botani bebas virus dan penyakit, volume benih dan biaya produksi rendah, sehingga menjadi pilihan tepat (Sumarni *et al.* 2012). Kendala dalam produksi TSS yakni kemampuan berbunga varietas bawang merah sangat beragam yakni < 10-30% (Rosliani *et al.* 2005). Perbedaan kemampuan dan waktu berbunga pada varietas bawang merah tersebut menyulitkan untuk produksi benih TSS pada beberapa varietas maupun persilangan antar varietas.

Kemampuan berbunga bawang merah yang rendah dipicu oleh beberapa faktor seperti panjang lama penyinaran matahari (fotoperiodisme) dan suhu rata-rata yang tinggi untuk menginisiasi pembungaan. Menurut persebaran panjang hari berdasarkan garis lintang oleh Hygrotech (2010), negara yang banyak mengkonsumsi dan memproduksi bawang merah seperti Asia Tenggara, Asia Tengah, dan Afrika termasuk dalam kawasan fotoperiodisme hari pendek (*short day*, SD), dengan lama panjang penyinaran cahaya matahari berkisar 10 jam perhari. Panjang lama penyinaran yang tersebut dapat menghambat proses pembungaan pada beberapa varietas, sehingga mempersulit proses transfer sifat melalui hibridisasi. Beberapa varietas bawang merah memiliki sifat-sifat penting untuk pemuliaan tanaman seperti Rubaru yang memiliki ketahanan tinggi terhadap serangan fusarium dan antraknosa, sedangkan Palasa memiliki ketahanan yang moderat pada fusarium (Galvan *et al.* 1997; Aprilia *et al.* 2020). Namun, kedua varietas tersebut belum mampu berbunga pada kondisi fotoperiodisme di Indonesia meskipun telah ditanam pada ketinggian lebih dari 1000 mdpl maupun diberi perlakuan vernalisasi (Idhan *et al.* 2015; Marlin *et al.* 2018)

Pemberian sinar yang lebih lama diketahui menginduksi pembungaan lebih cepat dibandingkan dengan pemberian lama penyinaran yang lebih pendek. Khokar *et al.* (2007) menyatakan jika perlakuan fotoperiod yang lebih lama, *long day* (17 jam hari<sup>-1</sup>) pada suhu rendah hingga sedang (12,2 -17,8 °C) meningkatkan jumlah floret, sedangkan suhu udara yang lebih tinggi (23-24,4 °C) akan menurunkan jumlah floret meskipun diberi perlakuan fotoperiod selama 17 jam hari<sup>-1</sup>. Selain itu, kemampuan berbunga inter spesies dan varietas akan sangat beragam, sehingga perlu dilakukan

## 5.3 Metode

### 5.3.1 Waktu dan Tempat

Percobaan dilakukan di rumah kaca Laboratorium *Horticulture*, Universitas Gifu, Jepang, pada bulan November 2019-Februari 2020. Kondisi cuaca penanaman di Jepang di sajikan pada Tabel 9.

Tabel 9 Kondisi cuaca penanaman bawang merah di Kota Gifu, Jepang

Parameter (X)	Bulan- (2019 - 2020)			
	Akhir November	Desember	Januari	Februari
Temperatur (°C)	13,40	8,60	7,60	7,00
Fotoperiod (jam)	10,17	9,49	9,87	10,77

Sumber: JMA (2020).

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

### 5.3.2 Alat dan Bahan

Bahan genetik yang digunakan yaitu, lima varietas bawang merah, Lokananta, Bima Brebes, Rubaru, Palasa, dan Biru Lancor. Bahan penanaman dan pemeliharaan seperti tanah komposit, fungisida dan bakterisida. Peralatan yang digunakan yaitu peralatan sarana produksi pertanian.

### 5.3.3 Prosedur Kerja

Desain percobaan menggunakan RKLK faktorial. Masing-masing perlakuan terdapat tiga tanaman bawang merah tiap varietas. Penanaman dilakukan di polibag ukuran 40x30 cm di rumah kaca. Bawang merah diberi perlakuan lama penyinaran (fotoperiodisme). Perlakuan hari pendek (kondisi alami,  $\pm 10$  jam) dilakukan selama 60 hari, kemudian sebagian tanaman dipindah ke kondisi hari panjang ( $\pm 10$  jam kondisi alami, ditambah 4 jam penyinaran lampu *fluorescence*). Parameter yang diamati yakni jumlah umbel bunga dan jumlah umbel bunga terbuka pada 120 hari setelah tanam (HST).

### 5.3.4 Analisa Data

Analisa data dilakukan dengan menggunakan aplikasi *software* Minitab 19 berbasis pada rancangan kelompok lengkap teracak (RKLK) 2 faktorial. Faktor pertama adalah varietas bawang merah, sedangkan faktor kedua yaitu fotoperiodisme.

## 5.4 Hasil dan Pembahasan

Perbedaan respon pembungaan ditemukan pada kelima varietas bawang merah yang diuji. Secara umum, Lokananta merupakan varietas yang paling mudah berbunga meskipun tanpa perlakuan lama penyinaran (Tabel 10, Gambar 10). Respon kelima varietas bawang merah kecuali Rubaru, menunjukkan adanya pengaruh panjang hari terhadap respon pembungaan pada jumlah umbel bunga. Umbel bunga terbuka hanya pada varietas Lokananta di fotoperiodisitas hari panjang, sedangkan pada hari pendek umbel tidak terbuka. Keempat varietas lain yang diuji juga tidak menunjukkan adanya umbel yang terbuka.

Tabel 10 Respon pembungaan terhadap lama penyinaran

Varietas	Perlakuan		Respon (x)	
	Fotoperiod (jam)	Jumlah umbel bunga	Umbel terbuka	
Lokananta	10	7 <sup>c</sup>	0 <sup>b</sup>	
	14	15 <sup>ab</sup>	6 <sup>a</sup>	
Bima Brebes	10	3 <sup>d</sup>	0 <sup>b</sup>	
	14	17 <sup>a</sup>	0 <sup>b</sup>	
Rubaru	10	0 <sup>e</sup>	0 <sup>b</sup>	
	14	0 <sup>e</sup>	0 <sup>b</sup>	
Palasa	10	1 <sup>de</sup>	0 <sup>b</sup>	
	14	16 <sup>ab</sup>	0 <sup>b</sup>	
Biru Lancor	10	3 <sup>d</sup>	0 <sup>b</sup>	
	14	14 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	

<sup>a</sup>Angka-angka pada kolom yang sama yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf uji 5% (uji Tukey)



Panjang lama penyinaran mampu menginisiasi ditunjukkan pada perlakuan hari panjang (14 jam) mampu menginisiasi pembungaan dibandingkan perlakuan hari pendek (10 jam) bahkan pada varietas yang tidak berbunga di Indonesia, yakni varietas Palasa, dengan kondisi temperatur udara saat penanaman berkisar antara 7-13,40 °C (Gambar 10).



Gambar 10 Respon berbunga bawang merah pada perlakuan hari panjang (kiri) dan hari pendek (kanan) pada 120 HST. (a) Lokananta, (b) Bima Brebes, (c) Rubaru, (d) Palasa, (e) Biru Lancor.

Responsifitas Lokananta yang tinggi terhadap pembungaan juga ditunjukkan pada hari ke 75 setelah tanam (Gambar 11). Kelima varietas bawang merah yang ditanam pada kondisi alami (lama penyinaran ± 10 jam hari<sup>-1</sup>, temperatur antara 7-13 °C), akan tetapi fotoperiodisitas kurang dari 12 jam tidak mampu menginisiasi pembungaan hingga 60 HST (pertengahan Januari). Calon infloresen terlihat hanya pada varietas Lokananta pada 15 hari setelah penambahan lama penyinaran cahaya.



Gambar 11 Calon infloresen pada 75 HST hari panjang, 15 hari setelah perlakuan hari panjang (kiri) dan hari pendek (kanan). (a) Lokananta, (b) Bima Brebes, (c) Rubaru, (d) Palasa, (e) Biru Lancor. Kotak merah menunjukkan calon infloresen

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkannya dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Peningkatan fotoperiodisitas mempercepat proses inisiasi dan perkembangan bunga dari keempat varietas bawang merah kecuali Rubaru yang tidak berbunga. Bawang merah yang ditanam pada hari panjang, inisiasi pembungaan terjadi lebih cepat dibandingkan dengan bawang merah di hari pendek. Bahkan pada varietas Palasa dapat berbunga dengan penambahan fotoperiodisitas. Hal ini terlihat pada saat ditanam pada kondisi alami, suhu berkisar 10 °C dan fotoperiodisitas  $\pm$  10 jam (JMA 2020), inisiasi dan perkembangan pembungaan terhambat.

Varietas Palasa diketahui tidak bisa berbunga meskipun ditanam di dataran tinggi Indonesia, lebih dari 1000 mdpl., dengan suhu 16-18 C (Idhan *et al.* 2015). Inisiasi pembungaan memerlukan suhu rendah (7–12 °C) dan panjang fotoperiodisitas lebih dari 12 jam (Brewster 2008, Khokhar *et al.* 2007). Namun untuk pemanjangan tangkai umbel bunga diperlukan suhu yang lebih tinggi, 17 °C, sedangkan untuk pembuahan dan pembijian diperlukan suhu optimum yang lebih tinggi yakni 35 °C (Mondal & Husain 1980). Pemanjangan umbel bawang merah terhambat pada penanaman di kondisi natural.

Pada panjang hari kurang dari 12 jam, inisiasi pembungaan hanya terjadi sekitar 50% dari total populasi tanaman. Hal ini terjadi akibat adanya penurunan produksi karbohidrat dan gangguan keseimbangan hormonal pada kondisi panjang hari pendek dan intensitas cahaya rendah, sedangkan untuk inisiasi pembungaan dibutuhkan produksi karbohidrat yang cukup tinggi (Shishido Saito 1976). Hal ini terlihat pada kondisi bawang merah pada perlakuan hari pendek, bunga yang dihasilkan lebih sedikit jumlahnya dibandingkan dengan yang dipindah ke perlakuan hari panjang setelah 60 hari. Selain itu, menurut Rabinowitch dan Kamenetsky (2002), bawang merah merupakan tanaman hari panjang, sehingga pembungaan terjadi bila fotoperiode yang diterima lebih panjang daripada fotoperiode minimum kritis.

Pemberian lama penyinaran tambahan 4 jam, hanya mampu menginisiasi pembukaan umbel pada varietas Lokananta, namun tidak pada varietas Bima Brebes, Palasa dan Biru Lancor. Penambahan lama pencahayaan mungkin diperlukan untuk meningkatkan jumlah umbel bunga terbuka pada ketiga varietas bawang merah yang diuji. Shopa *et al.* (2014) menuturkan bahwa pemberian cahaya selama 16 jam meningkatkan jumlah bunga per umbel dan produksi *true shallot seed*.

## 5.5 Kesimpulan

Perbedaan fotoperiodisitas berpengaruh nyata pada pada jumlah umbel bunga dan umbel bunga terbuka varietas bawang merah Lokananta, Bima Brebes, Palasa, dan Biru Lancor. Kecuali varietas Rubaru yang tidak berbunga pada fotoperiode hari pendek maupun hari panjang pada kondisi cuaca penanaman sesuai untuk inisiasi pembungaan. Varietas Lokananta mampu berbunga baik pada hari pendek ( $\pm$  10 jam) maupun hari panjang.



## VI PEMBAHASAN UMUM

Perlakuan induksi poliploid pada bawang merah varietas Rubaru tidak dapat menghasilkan umbi M1V1. Hal ini dikarenakan tidak meratanya peningkatan ploidi pada setiap sel di bawang merah. Terdapat dua jenis ploidi pada sel umbi bawang merah yang terkena mutagen kolkisina, yakni sel dengan kromosom diploid dan kromosom tetraploid. Tanaman dengan sel yang kromosomnya tetraploid pada minggu keempat keseluruhannya tidak hidup. Hal ini dikarenakan pertumbuhan akar dan daun yang lebih lambat, sehingga tanaman tidak bisa menghasilkan akar yang normal untuk pertumbuhannya. Menurut Damayanti dan Mariska (2003), kolkisina menyebabkan terhambatnya pertumbuhan akibat jaringan yang rusak sehingga tanaman memerlukan waktu lebih lama untuk tumbuh. Lamanya pertumbuhan tanaman juga diakibatkan oleh besarnya jumlah kromosom dari kromosom awal. Suryo (2007) menyatakan jumlah kromosom yang mengganda juga menyebabkan pembelahan sel menjadi lambat.

Selain itu, peningkatan ploidi yang tidak seragam pada umbi bawang merah M0 menyebabkan tanaman bawang merah M0 memiliki dua morfologi berbeda pada satu tanaman. Hal tersebut menunjukkan adanya perbedaan jumlah ploidi pada satu tanaman yakni diploid ( $2n=2x=16$ ) dan tetraploid ( $2n=4x=32$ ), yang ditunjukkan oleh hasil analisa kromosom. Bagian tanaman yang memiliki ploidi ganda atau tetraploid berangsur kemabli menjadi tanaman yang memiliki morfologi sama dengan bagian tanaman diploid. Hal ini dikarenakan adanya proses kompetisi antara sel-sel mutan dan sel-sel normal atau proses *diplontic selection*, yang menyebabkan sel-sel mutan pada tetraploid akhirnya menghilang pada umbi bawang merah varietas Rubaru, sehingga tidak menghasilkan umbi M1V1. *Diplontic selection* merupakan persaingan antara sel-sel diploid dalam organisme multiselular yang terjadi hanya ketika mutasi dominan atau perubahan dominan lainnya pada jaringan meristem (Klekowski 2003, Redei 2008).

Usaha peningkatan ploidi pada umbi bawang merah varietas Rubaru tidak dapat menghasilkan umbi poliploid. Usaha peningkatan ploidi serupa juga telah dilakukan di umbi bawang merah namun varietas lain yakni Bima Brebes yang dilakukan oleh Sari (2018) dan tidak berhasil mendapatkan umbi dengan ploidi yang lebih tinggi. Hal ini menunjukkan jika peningkatan ploidi menggunakan umbi tidak dapat dilakukan pada bawang merah. Khusus untuk varietas yang tidak dapat menghasilkan bunga seperti Rubaru, maka bisa dilakukan peningkatan kualitas dan kuantitas, serta mentransfer karakter-karakter unggul pada bawang merah Rubaru melalui fusi protoplas. Fusi protoplas merupakan metode hibridisasi somatik tanaman untuk memanipulasi genom secara langsung pada tanaman yang sulit disilangkan secara konvensional dengan menggabungkan dua atau lebih sel somatik dari kultivar, spesies, bahkan genus yang berbeda. Fusi protoplast mampu memanipulasi ploidi tanaman

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



dengan menghasilkan enam galur hibrida somatik  $2n=180$  pada persimmon, pisang pentaploid, hexaploid, tetraploid, triploid, diploid, dan heptaploid, tanaman hibrida allotetraploid dan triploid seperti pada jeruk, hibrida mixoploid, intermonoploid dan allotetraploid pada kentang, (Tamura 1997; Johnson 1998; Assani *et al.* 2005; Grosser dan Gmitter 2011; Calovic *et al.* 2019).

Sikuen gen *AcFT2* like shallot dari kelima varietas bawang merah menunjukkan bahwa gen tersebut memiliki homologi yang tinggi antar kelima varietas bawang merah yang diuji. Homologi yang tinggi tersebut juga dapat dilihat pada hasil pensejajaran sikuen asam amino dan *blast* NCBI, gen *AcFT2* like shallot memiliki homologi yang tinggi dengan protein pembugaan pada genus *Allium* dan tanaman lain. Gen *AcFT2* like shallot kelima varietas bawang merah memiliki residu dan motif protein kunci terkait fungsi *FT* dan motif-motif protein terkait dengan pembungaan yang terkonservasi pada gen *FT A. thaliana* dan genus *Allium* lainnya (Bi *et al.* 2019). Perbedaan basa nukleotida pada sikuen gen *AcFT2* like shallot terlihat pada basa nukleotida ke -71 yaitu basa timin (T) yang hanya terdapat di varietas Bima Brebes dan tidak terdapat di keempat varietas lain dan gen referensi *AcFT2 A. cepa*.

Analisa ekspresi relatif gen berdasarkan sikuen *AcFT2* like shallot yang dilakukan pada varietas Lokananta dan Bima Brebes menunjukkan jika ekspresi relatif gen *AcFT2* like shallot pada Lokananta lebih tinggi dibandingkan dengan Bima Brebes, diikuti oleh jumlah umbel bunga pada Lokananta secara nyata lebih banyak dibandingkan di Bima Brebes. Hasil analisa korelasi menyatakan bahwa terdapat korelasi nyata antara ekspresi relatif gen *AcFT2* terhadap jumlah umbel bunga sebagai respon pembungaan bawang merah. Hal tersebut menunjukkan bahwa gen *AcFT2* like shallot yang diisolasi pada bawang merah memang bekerja pada mekanisme pembungaan bawang merah. Ekspresi gen ini yang lebih rendah pada kondisi vernalisasi menunjukkan bahwa mekanisme kerja pembungaan melalui vernalisasi dikendalikan oleh ekspresi gen-gen lain seperti gen *VRN*, sedangkan gen *FT* merupakan gen yang mekanisme kerja utamanya berdasarkan fotoperiodisitas dan menjadi faktor transkripsi bagi gen pengendali pembungaan utama *APETALA1 (AP1)* (Samach *et al.* 2000; Khan *et al.*, 2013; Liu *et al.* 2015; Shim *et al.* 2017; Kinoshita dan Richer 2020).

Fotoperiodisitas diketahui terbukti berperan pada pembungaan di lima varietas bawang merah lokal Indonesia. Fotoperiodisitas hari panjang, panjang lama penyinaran kurang lebih 14 jam menghasilkan umbel bunga lebih banyak dibandingkan fotoperiodisitas hari pendek, panjang lama penyinaran kurang lebih 10 jam, kecuali pada varietas Rubaru yang tidak menghasilkan bunga dikedua fotoperiodisitas. Fotoperiodisitas hari panjang sangat menentukan pembentukan bunga selain temperatur atau suhu antara rendah hingga moderat, hal tersebut terlihat dari berbunganya varietas Palasa yang tidak dapat berbunga di bawah kondisi fotoperiodisitas Indonesia yang rata-rata adalah 10 jam dan paling lama 12 jam meskipun telah ditanam di dataran tinggi lebih dari 1000 mdpl. Temperatur rata-rata pada kondisi normal di dataran tinggi Indonesia yaitu

@Hak cipta milik IPB University

IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



antara 14-26 °C (Purwantara 2011; BMKG 2020), kondisi penanaman tersebut sesuai untuk inisiasi pembungaan yang berkisar antara 7-12 °C (Khokhar 2007). Kondisi penanaman di Jepang berkisar antara 7-13 °C hingga muncul umbel bunga. Varietas Lokananta diketahui merupakan varietas paling responsif pada pembungaan karena varietas ini secara nyata memiliki jumlah umbel lebih banyak pada fotoperiodisitas hari pendek dan satu-satunya varietas yang umbelnya terbuka pada kondisi fotoperiodisitas hari panjang meskipun suhu untuk pembukaan umbel tidak terpenuhi pada saat penanaman di Jepang. Suhu dan intensitas cahaya sangat berpengaruh pada inisiasi pembungaan setelah perlakuan vernalisasi, dalam hal ini suhu rendah hingga moderat pada saat penanaman. Suhu untuk pembukaan umbel bunga dan pemekaran bawang merah yaitu 17-19 °C, kemunculan infloresensia tercepat terjadi pada suhu tinggi (20-30 °C) dan hari panjang (14-16 jam) (Rabinowitch 1990, Shopa *et al.* 2014; Khokhar 2014).

Oleh karena itu, varietas Lokananta dapat digunakan sebagai varietas model untuk studi mekanisme pembungaan dan gen yang bekerja dibawah berbagai kondisi periodisitas. Selain itu juga dapat digunakan sebagai sumber genetik untuk transfer karakter responsifitas berbunga yang tinggi ke varietas bawang merah lain yang sukar, bahkan tidak dapat berbunga, baik melalui pemuliaan konvensional seperti hibridisasi maupun non-konvensional seperti fusi protoplas untuk varietas bawang merah yang tidak dapat berbunga seperti varietas Rubaru.

#### Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

## VII SIMPULAN DAN SARAN

### 7.1 Simpulan

Simpulan dari pembahasan terkait kedua percobaan diatas yaitu:

1. Aplikasi kolkisina pada umbi secara *invivo* menghasilkan peningkatan ploidi terbatas hanya pada sel-sel tertentu.
2. Sikuens fragmen gen *AcFT2* dapat diidentifikasi pada varietas bawang merah Lokananta, Bima Brebes, Palasa, Rubaru dan Biru Lancor dengan tingkat homologi yang tinggi dengan sikuen gen referensi *AcFT2* CUDH2150 dan gen *FT* genus *Allium* lainnya.
3. Ekspresi relatif gen *AcFT2* like shallot pada varietas bawang merah Lokananta dan Bima Brebes berkorelasi terhadap tingkat pembungaan. Varietas Lokananta menunjukkan ekspresi relatif gen dan jumlah umbel bunga yang tinggi.
4. Perbedaan fotoperiodisitas berpengaruh pada pada jumlah umbel bunga dan umbel bunga terbuka varietas bawang merah Lokananta, Bima Brebes, Palasa, Rubaru dan Biru Lancor. Varietas Lokananta mampu berbunga pembungaan baik pada hari pendek ( $\pm$  10 jam) maupun hari panjang.

### 7.2 Saran

1. Peningkatan ploidi pada bawang merah Rubaru yang tidak menghasilkan bunga dapat menggunakan fusi protoplas sebagai langkah hibridisasi non-konvensional dengan varietas bawang merah berbunga.
2. Perlu penelitian lanjutan mengenai peran gen *AcFT2* like shallot serta gen-gen lain yang berperan dalam pembungaan pada bawang merah.
3. Analisa ekspresi gen *AcFT2* like shallot pada bawang merah dibawah perlakuan fotoperiodisitas perlu dilakukan untuk menelaah lebih lanjut fungsi gen *AcFT2* like shallot.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



## DAFTAR PUSTAKA

- Adeyemo OS, Chavarriaga, Tohme J, Fregene M, Davis SJ. 2017. Overexpression of *Arabidopsis* FLOWERING LOCUS T (*FT*) gene improves floral development in cassava (*Manihot esculenta*, Crantz). *PLoS ONE*. 12(7).
- Aisyah SI, Aswidinnoor H, Saefuddin A, Marwoto B, Sastrosumarjo S. 2009. Induksi mutasi pada stek pucuk anyelir (*Dianthus caryophyllus* Linn.) melalui iradiasi sinar gamma. *J. Agron Indonesia*. 37(1):62–67.
- Alam MM. 2011. Induction and evaluation of polyploidy in some local potato varieties of Bangladesh. *J. of Biodiversity and Environmental Sciences (JBES)*. 1(2): 6-21.
- Alvares A, Mantoani A, Corrente JE, Coutinho LL. 2003. Standard-curve competitive RT-PCR quantification of myogenic regulatory factors in chicken embryos. *Braz J Med Biol Res*. 36(12): 1629-1641.
- Aoki S, Toh S, Nakamichi N, Hayashi Y, Wang Y, Suzuki T, Tsuji H, Kinoshita T. 2019. Regulation of stomatal opening and histone modification by photoperiod in *Arabidopsis thaliana*. *Sci Rep*. 9:10054. doi: 10.1038/s41598-019-46440-0.
- Applied Biosystem. 2003. Guide to performing relative quantitation of gene expression using real-time quantitative pcr [Internet]. [diakses pada 2019 Desember 03]. Tersedia pada: [http://www3.appliedbiosystems.com/cms/groups/mcb\\_support/documents/generaldocuments/cms\\_042380.pdf](http://www3.appliedbiosystems.com/cms/groups/mcb_support/documents/generaldocuments/cms_042380.pdf).
- Aprilia I, Maharijaya A, Sobir, Wiyono S. 2020. Keragaman genetik dan ketahanan terhadap fusarium (*Fusarium oxysporum* f. sp *cepae*) bawang merah (*Allium cepa* L. var. *aggregatum*) Indonesia. *J. Hort. Indonesia*. 11(1): 32-40.
- Aristya GA. 2014. Optimalisasi induksi poliploid pada tanaman stroberi (*Fragaria* spp ‘Festival’ dan ‘Californica’). *J. Penelitian dan Pengembangan Pemerintah Daerah DIY*. IV (10): 79.
- Askhari-Khorasani O, Pessarakli M. 2019. Agricultural management and environmental requirements for production of true seed shallot production-a review. *Adv Plants Agric Res*.9(2):318–322. doi: 10.15406/apar.2019.09.00441.
- Assefa G, Girma S, Lammesa K. 2016. Effect of Nitrogen and Phosphorus Fertilizer Rates on Yield and Yield Components of Shallot (*Allium cepa* L) at Gemechis and Daro Labu Districts, West Hararghe Zone. *J. of Biology, Agricultural, and Healthcare*. 6(24): 2224-3208.
- Assani A, Chabane D, Haïcour R, Bakry F, Wenzel G, Foroughi-Wehr B. 2005. Protoplast fusion in banana (*Musa* spp.): comparison of chemical (PEG: polyethylene glycol) and electrical procedure. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 83: 145–151.
- Bharadwaj DN. 2015. Polyploidy in crop improvement and evolution. India: Springer India.
- [BMKG] Badan Meteorologi, Klimatologi, dan Geofisika. 2020. Data online BMKG [Internet]. [diakses pada 2020 Maret 11]. Tersedia pada: [http://dataonline.bmkg.go.id/data\\_iklim](http://dataonline.bmkg.go.id/data_iklim).
- Baran KP. 2014. Toxicity testing, inhalation: encyclopedia of toxicology 3rd edition. USA: Elsevier.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

- Baswarsiati, Sudaryono T, Andri KB, Purnomo S. 2015. Pengembangan varietas bawang merah potensial dari Jawa Timur. BPTP Jawa Timur. [http://hortikultura.litbang.pertanian.go.id/Buku\\_Inovasi/5-20.Baswarsiati%20Pengembangan%20bawang%20merah.pdf](http://hortikultura.litbang.pertanian.go.id/Buku_Inovasi/5-20.Baswarsiati%20Pengembangan%20bawang%20merah.pdf)
- Bi Z, Huang H, Hua Y. 2019. Cloning and characterization of two *FLOWERING LOCUS T*-like genes from rubber tree (*Hevea brasiliensis*). *J. of Plant Growth Regulation*. doi: 10.1007/s00344-018-9902-z.
- Brewster LL. 2008. Onions and other vegetable *Alliums* 2nd edition. Cambridge (EN): CABI Publishing.
- Bustin SA. 2000. Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays. *J Mol Endocrinol*. 25:169-193.
- Calovic M, Chen C, Yu Q. 2019. New somatic hybrid mandarin tetraploid generated by optimized protoplast fusion and confirmed by molecular marker analysis and flow cytometry. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 144(3): 151-163.
- Camoni L, Visconti S, Aducci P, Marra M. 2018. 14-3-3 proteins in plant hormone signaling: doing several things at once. *Fontr. In Plant Science*. 9(297):1-8.
- Cao L, Zhang P, Lu X, Wang G, Wang Z, Zhang Q, Zhang X, Wei X, Wei L, Wang T. 2020. Systematic analysis of the maize *OSCA* genes revealing *ZmOSCA* family members involved in osmotic stress and *ZmOSCA2.4* confers enhanced drought tolerance in transgenic *Arabidopsis*. *Int. J. Mol. Sci.* 21(1): 351.
- Caperta AD, Degaldo M, Ressurreicao F, Meister A, Jones RN, Viegas W, Houben A. 2006. Colchicine-induced polyploidization depends on tubulin polymerization in c-metaphase cells. *Protoplasma*. 4-7. doi 10.1007/s00709-005-0137-z.
- Casarotto G, Kaspary TU, Cutti L, Thomas AL, Neto JFB. 2019. Expression of genes related to soil flooding tolerance in soybeans. *Acta Sci. Agron.* 41: e42709.
- Chen A, Dubcovsky J. 2012. Wheat *TILLING* Mutants Show That the Vernalization Gene *VRN1* Down-Regulates the Flowering Repressor *VRN2* in Leaves but Is Not Essential for Flowering. *PLoS Genetic*. 8(12):1-13.
- Chaudhuri SK, Ghosh S. 1997. Monoclonal antibody raised against human mitotic cyclin B1, identifies cyclin B-like mitotic proteins in synchronized onion (*Allium cepa*) root meristem. *Cell Biol Int*. 21: 159–166
- Chen Z. 2010. Molecular mechanism of polyploid and hybrid vigour. *Trends Plant Sci.* 15:57-71.
- Citra, K.A., and I. Firmansyah. 2020. Effect of plant growth regulator to the flowering and true seed shallot production on the highland. Prosiding Seminar Nasional Kesiapan Sumber Daya Pertanian dan Inovasi Spesifik Lokasi Memasuki Era Industri 4.0. <http://repository.pertanian.go.id/bitstream/handle/123456789/9242/PROSIDIN%20JATENG-513518.pdf?>
- Cheng Z, Zhou X, Khan M A, Su L, Meng H. 2012. In vitro induction of tetraploid garlic with trifluralin. *Genet. Mol. Res.* 11(3): 2620-2628. doi 10.4238/2012.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



- Dalvi VS, Patil YA, Krishna B, Sane PV, Sane A. 2016. Identification of bulbing related genes in short day, non vernalization requiring onion. *Acta Hort.* 1143: 269-276.
- Damayanti F, Mariska I. 2003. Induksi poliploidi pada hibrid F1 hasil persilangan antar spesies pada tanaman panili secara in vitro. *Jurnal Ilmiah Mulawarman Sci.* 2(2): 12-17.
- Dhanasekaran S, Doherty TM, Kenneth J. 2010. Comparison of different standards for real-time PCR-based absolute quantification. *J Immunol Meth.* 354:34-39.
- Dhooghe E, Laere KV, Eeckhaut T, Leus L, Huylenbroeck JV. 2011. Mitotic chromosome doubling of plant tissues in vitro. *Plant Cell Tiss Organ Cult.* 104: 359-373.
- ELC [The Environmental Literacy Council]. 2015. Crops. [Internet]. [Diunduh 2020 Des 05]. Tersedia pada <https://enviroliteracy.org/food/crops/>.
- Erythrina. 2011. Perbenihan dan Budidaya Bawang Merah. Balai Besar Pengkajian dan Pengembangan Teknologi Pertanian (BBP2TP), Jl.Tentara Pelajar No.10 Cimanggu Bogor:74-84.
- FAOSTAT. 2018. Food and agriculture organization corporate statistical database. [Internet]. [Diunduh 2020 Des 28]. Tersedia pada: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>.
- Fathurrahman. 2016. Effect of colchicine application on growth and yield of black soybean (*Glycine max (L.) merr*). *J. Dinamika Pertanian.* XXXII (1):21-26.
- Firbas P, Amon T. 2014. Chromosome damage studies in the onion plant *Allium cepa* L. *Caryologia: International journal of Cytologi, Cytosystematics and Cytogenetics.* 67(1):25-35.
- Fox DT, Duronio RJ. 2013. Endoreplication and poliploidi: insight into development and disease. *Development.* 140:3-12. doi:10.1242/dev.080531.
- Fritsche-Net R, Borém A. 2012. Challenges for Plant Breeding to Develop Biotic-Resistant Cultivars. *Plant breeding for biotic stress resistance.* Berlin: Springer.
- Galvan G, Wietsma WA, Putrasemedja S, Permadi AH, Kik C. 1997. Screening for resistance to anthracnose (*Colletotrichum gleosporoides* Penz.) in *Allium cepa* and its wild relatives. *Euphytica.* 95:173-178.
- Global trade. 2020. Overview of the onion and shallot market in Asia Pacific. [Internet]. [Diunduh 2020 Des 28]. Tersedia pada:<https://www.globaltrademag.com/overview-of-the-onion-and-shallot-market-in-asia-pacific/#:~:text=In%202018%2C%20the%20highest%20levels,at%2014%20kg%20per%20person>.
- Gultom T. 2016. Effect of kolkisina on chromosome number of garlic (*Allium sativum*) local cultivars doulu. *Jurnal Biosains.* 2 (3): 165-172.
- Grosser JW, Gmitter FG. 2011. Protoplast fusion for production of tetraploids and triploids: applications for scion and rootstock breeding in citrus. *Plant Cell Tiss Organ Cult* (2011) 104:343-357. doi: 10.1007/s11240-010-9823-4.
- Hancock JF. 2005. Contributions of domesticated plant studies to our understanding of plant evolution. *Ann. Bot.* 96: 953-963.
- Hapsoh, Hasanah, Y. 2011. Budidaya Bawang Merah. Medan: Universitas Sumatera Utara Press.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

- Harisandi H. 2013. Deskripsi komoditas bawang merah varietas unggul Rubaru. [internet]. [Diunduh 23 Maret 2019]. Tersedia pada <http://sumenepkab.go.id>.
- Haryanti S, Hastuti RB, Setiari N, Banowo A. 2009. *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi*. 10(2):112-120.
- Hidayat IM, Sulastrini I. Screening for tolerance to anthracnose of shallot (*Allium ascalonicum*) genotypes. *Proc. Int. Sym. on Plant Breeding in Horticulture*. 127: 89-96.
- Horner R. 2003. *Methods for qPCR Analysis*. London (UK): Ambion, The RNA Company.
- Idhan A, Syam'un E, Zakariya B, Riyadi M. 2015. Potential selection of flowering and tuber production in fourteen onion varieties (*Allium ascalonicum* L.) at lowland and upland. *Int.J.Curr.Res. Biosci.Plant Biol*. 2(7):63-67.
- Jack T. 2004. Molecular and genetic mechanisms of floral control. *Plant Cell*. 16: 1-17.
- Johnson AAT. 1998. Protoplast fusion for the production of intermonoploid somatic hybrids in cultivated potato. [Thesis]: Virginia Polytechnic Institute and State University [ID: Virginia].
- [JMA] Japan Meteorological Agency. 2020. Monthly mean air temperature [Internet]. [diakses pada Maret 11]. [https://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/view/monthly\\_s3\\_en.php?block\\_no=47632&view=1](https://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/view/monthly_s3_en.php?block_no=47632&view=1).
- Karim SRM, Ibrahim NR. 2013. Effect of planting time, day length, soil ph and soil moisture on onion. *IJBPAS*. 2(4):807-814.
- Karlgrén A, Gyllenstrand N, Källman T, Sundström JF, Moore D, Lascoux M, Lagercrantz U. 2011. Evolution of the PEBP gene family in plants: functional diversification in seed plant evolution. *Plant physiology*. 156:1967–1977.
- Kazi NA. 2015. Polyploidy in vegetable. *J. of Global Biosciences*. 4(3): 1774-1779.
- Kementerian Pertanian Republik Indonesia. 1984. Lampiran surat keputusan kementerian pertanian. [Internet]. [Diunduh 2020 Des 25]. Tersedia pada <http://varitas.net/dbvarietas/deskripsi/194.pdf>.
- Kementerian Pertanian. 2017. Mengolah bawang merah dalam bentuk *in brine*. [Internet]. [Diunduh 2019 Feb 25]. Tersedia pada <http://pertanian.go.id>.
- Kementerian Pertanian Republik Indonesia. 2018. Produksi Sayuran Nasional 2012-2016. [Internet]. [Diunduh 2018 Mar 28]. Tersedia pada [http://pertanian.go.id/ap\\_pages/mod/datahorti](http://pertanian.go.id/ap_pages/mod/datahorti).
- Khan MRG, Ai X, Zhang J. 2013. Advanced review: genetic regulation of flowering time in annual and perennial plants. *WIREs RNA* 2013. doi: 10.1002/wrna.1215.
- Khokhar KM, Hadley P, Pearson S. 2007. Effect of photoperiod and temperature on inflorescence appearance and subsequent development towards flowering in onion raised from sets. *Sci. Hortic*. 112: 9–15.
- Khokhar KM. 2014. Flowering and seed development in onion—A Review. *Open Access Library Journal*, 1: e1049.
- Kokhar, KM 2019. Onion, An ancient crop and modern practices- A review Chapter: NoorPublishing. [https://www.researchgate.net/publication/335404254\\_Part\\_2\\_Onion\\_seed\\_production\\_CHAPTER\\_1\\_Inflorescence\\_initiation\\_development](https://www.researchgate.net/publication/335404254_Part_2_Onion_seed_production_CHAPTER_1_Inflorescence_initiation_development).

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

- Kinoshita A, Richter R. 2020. Genetic and molecular basis of floral induction in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Experimental Botany*. 71(9): 2490-2504.
- Kim D, Sung S. 2014. Genetic and epigenetic mechanism underlying vernalization. *The Arabidopsis Book* 11: e0171. doi:10.1199/tab.017.
- Klekowski EJ. 2003. Plant clonality, mutation, diplontic selection and mutational meltdown. *Biological Journal of the Linnean Society*. 79: 61–67.
- Klima M, Vyvadilova M, Kucera V. 2008. Chromosome doubling effect of selected antimitosis agents in *Brassica napus* microspore culture. *Czech J. Genet. Plant Breed.*44(1): 30-36.
- Komiya E, Ikegami A, Tamaki S, Yokoi S, Shimamoto K. 2008. *Hd3a* and *RFT1* are essential for flowering in rice. *Development*. 135: 767-774. doi:10.1242/dev.008631.
- Kompas. 2018. Kementan targetkan ekspor 15 ribu ton bawang merah tahun ini. [Internet]. [Diunduh pada 2018 Oktober 24]. Tersedia pada <https://ekonomi.kompas.com/read/2018/08/13/062200626/kementan-targetkan-ekspor-15-ribu-ton-bawang-merah-tahun-ini>.
- Kurtar E.S, Balkaya A, Kandemir D. 2017. Determination of semi-lethal (LD<sub>50</sub>) doses for mutation breeding of winter squash (*Cucurbita maxima* Duch.) and pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch.). *Fresenius Environmental Buletin*. 26(5):3209-3216.
- Laimeheriwa BM. 2018. Sitogenetika dan analisa kromosom. [Internet]. [Diunduh pada 2018 Maret 22]. Tersedia pada [https:// Research.gate](https://Research.gate).
- Lehmann U, Kreipe H. 2001. Real-time PCR analysis of DNA and RNA extracted from formalin-fixed and paraffin-embedded biopsies. *Methods*. 25:409–418.
- Lee R, Baldwin, S., Kenel, F, McCallum J, McKnight R. 2013. *FLOWERING LOCUS T* genes control onion bulb formation and flowering. *Nature Communication*. 4:2884. doi: 10.1038/ncomms3884.
- Lehninger AL. 2005. Dasar-Dasar Biokimia Jilid. Penerbit Erlangga: Jakarta.
- Lestari DS. 2015. Bawang merah Rubaru pas dibuat bawang goreng. [Internet]. [Diunduh 2019 Feb 25]. Tersedia pada <https://lifestyle.okezone.com/>.
- Liu Y, Yang J, yang M. 2015. Pathways of flowering regulation in plants. *Chin. J. Bio*. 31(11): 1553–1566.
- Livak KJ, Schmittgen TD. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2– $\Delta\Delta$ CT method. *Methods*. 25(4):402–408
- Lyngkhoi F, Khar A, Mangal M, Gaikwad AB, Thirunavukkarasu N. 2019. Expression analysis and association of bulbing to *FLOWERING LOCUS T* (*FT*) gene in short day onion (*Allium cepa* L.). *Indian J. Genet*. 79(1): 77-81.
- Mahajan V, Devi A, Khar A, Lawande KE. 2015. Studies on mutagenesis in garlic using chemical mutagens to determine lethal dose (LD<sub>50</sub>) and create variability. *Indian J Hort*. 72(2): 289-292.
- Major M, Ban S. G, Urlic' B, Ban D, Dumicic G, Perkovic J. 2018. Morphological and biochemical diversity of shallot landraces preserved along the croatian coast. *Frontriers in Plant Sciences*. 9 (1749). doi: 10.3389/fpls.2018.01749.
- Manik F. 2016. Aplikasi BAP untuk meningkatkan produksi benih botani bawang merah (*Allium ascalinocum*) pada kultivar Bima, Bauji, dan Rubaru di dataran rendah. [Tesis]. Bogor(ID): Institut Pertanian Bogor.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



- Manoharan RK, Suk J, Han H, Vijayakumar H, Subramani B, Thamilarasan SK, Park J, Nou I. 2016. *Molecules*. 21(217). doi:10.3390/molecules21020217.
- Marlin, Maharijaya A, Purwito A, Sobir. 2018. Molecular diversity of the flowering related gene (*LEAFY*) on shallot (*Allium cepa* var. *aggregatum*) and allium relatives. *SABRAO J. Breed. Genet.* 50 (3): 313-328.
- Mondal MF, Husain. 1980. Effect of time of planting of onion bulbs on the yield and quality of seeds. *Bangladesh J.Agric.* 5: 131-34.
- Nursalim A, Komariah A, Hidayat O. 2018. Pengaruh lama perendaman kolkisina terhadap pertumbuhan planlet (*Chrysanthemum morifolium* R) Krisan Kultivar Pasopati Cara *In Vitro*. *Paspalum: Jurnal Ilmiah pertanian.* 6(2):124-132.
- Omidbaigi, Mirzaee RM, Hassani ME, Moghadam MS. 2010. Induction and identification of polyploidy in basil (*Ocimum basilicum* L.) medicinal plant by colchicine treatment. *Int. J. of Plant Production.* 4(2): 87-98.
- Palupi ER, Manik F, Surhatanto AM. 2017. Can We Produce True Seed of Shallot (TSS) from Small Size Shallot Sets?. *Journal of Tropical Crop Science.* 4(1):26-31.
- Pasriga R, Yoon J, Cho L, Ahn G. 2019. Overexpression of *RICE FLOWERING LOCUS T 1 (RFT1)* Induces Extremely Early Flowering in Rice. *Mol Cells.* doi: 10.14348/molcells.2019.0009.
- Pfaffl MW, Hageleit M. 2001. Validities of mRNA quantification using recombinant RNA and recombinant DNA external calibration curves in real-time RT-PCR. *Biotechnol Lett.* 23:275-282.
- Pramukyana L, Kendarini N, Respatijarti. 2018. Respond of GA<sub>3</sub> addition to the flowering of two shallot varieties (*Allium ascalonicum* L.). *J. Produksi Tanaman.* 6(7): 1433-1441.
- Purwantara S. 2015. Studi temperature udara terkini di Jawa Tengah dan DIY. *Geomedia.* 13(1). <https://doi.org/10.21831/gm.v13i1.4476>.
- Rabinowitch HD, Currah L. 2002. *Allium crop science: recent advances.* United Kingdom: CABI Publishing.
- Rashid MHA, Cheng W, Thomas B. 2019. Temporal and spatial expression of Arabidopsis gene homologs control daylength adaptation and bulb formation in onion (*Allium cepa* L.). *Sci. Rep.* 9:14629.
- Roslani R, Suwandi, Sumarni N. 2005. Pengaruh waktu tanam dan zat pengatur tumbuh mepiquat klorida terhadap pembungaan dan produksi biji bawang merah (TSS). *J. Hort.* 15(3): 92-98.
- Rukmana R. 1994. *Bawang Merah.* Kanisius: Yogyakarta.
- Samach A, Lotan H. 2007. The transition to flowering in tomato. *Plant Biotechnology.* 24: 71–82.
- Sari Y. 2018. Induksi poliploidi pada bawang merah (*Allium cepa* var. *aggregatum*) dengan menggunakan kolkisina. [Tesis]. Bogor(ID): Institut Pertanian Bogor.
- Setyowati M, Sulistyaningsih E, Purwatoro A. 2013. Induksi poliploidi dengan kolkisina pada kultur meristem batang bawang wakegi (*Allium x wakegi* Araki). *Ilmu Pertanian.* 16(1): 58 - 76.
- Shim JS, Kubota A, Imazumi T. 2017. Circadian Clock and photoperiodic flowering in Arabidopsis: *CONSTANT* is a hub for signal integration. *Plant Physiology.* 173:5-15.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

- Shishido Y, Saito T. 1976. Studies on flower bud formation in onion plant II, effect of physiological condition of flower bud on green plant. *J. Jpn. Soc.Hort. Sci.* 45:160.
- Shepherd CT, Lauter ANM, Scott MP. 2009. Determination of transgene copy number by real-time quantitative PCR. *Methods Mol Biol.* 526:129-34. doi: 10.1007/978-1-59745-494-0\_11.
- Shopa GA, Widodo WD, Poerwanto R, Palupi ER. 2014. Photoperiod and gibberellins effect on true shallot seed formation. *AAB Bioflux.* 6(1): 70-76.
- Sinha R, Sharma TR, Singh AK. 2019. Validation of reference genes for qRT-PCR data normalisation in lentil (*Lens culinaris*) under leaf developmental stages and abiotic stresses. *Physiol Mol Biol Plants.* 25: 123–134.
- Sintaheyu A, Fininsa C, Ahmed S, Sakhuja PK. 2011. Evaluations of shallot genotypes for resistance against fusarium basal rot (*Fusarium oxysporum* f. sp. cepae) disease. *Crop Protection.* 30: 1210e1215.
- Suminah, Sutarno, Setyawan AD. 2002. Induksi poliploidi bawang merah (*Allium ascalonicum* L.) dengan pemberian kolkisina. *Biodiversitas.* 3(1): 174-180. doi 10.13057/biodiv/d030102.
- Surson S, Sitthaphanit S, Wongma N. 2015. In vivo induction of tetraploid in tangerine citrus plants (*Citrus reticulate* Blanco) with the use of colchicine. *Pakistan J. of Biological Science.* 18(1):37-41. Doi 10.3923/pjbs.2015.37.41.
- Suryo H. 2007. Sitogenetika. Yogyakarta (ID): Gajah Mada University Press.
- Syamsiah, J., Rahayu, and Binafsihi, W. 2020. Soil properties and shallot yield responses to different salinity levels. *Sains Tanah Journal of Soil Science and Agroclimatology,* 17(1): 30-34.
- Syukur M, Sastrosumarjo S, Wahyu Y, Aisyah SI, Sujiprihati S, Yunianti R. 2015. Sitogenetika Tanaman. IPB Press: Bogor.
- Tagashira M, Kaneta T. 2015. Identification of bulbing hormone genes in onion (*Allium cepa*). *The 3rd International Conference on Biological Science* 2013. 2:630.
- Tamura M. 1997. Ploidy manipulation through protoplast culture of persimmon. *Acta Hort.* 436: 135-142. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1997.436.14>.
- Taoka K, Ohki I, Tsuji H, Furuita K, Hayashi K, Yanase T. 2011. 14-3-3 proteins act as intracellular receptors for rice *Hd3a* florigen. *Nature.* 476(7360):332–397.
- Tian C, Jiang Q, Wang F, Wang GL, Xu Z, Xiong A. 2015. Selection of suitable reference genes for qPCR normalization under abiotic stresses and hormone stimuli in carrot leaves. *PLoS ONE.* 10(2):1-16.
- Wang Y, Shimazaki K, Kinoshita T. 2014. Multiple roles of the plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase and its regulation. *Enzymes.* 35:191-211.
- Wang Z, Yang R, Devisetty UK, Maloof JN, Zuo Y, Li J, Shen Y, Zhao J, Bao M, Ning G. 2018. The Divergence of Flowering Time Modulated by *FT/TFL1* is Independent to Their Interaction and Binding Activities. *Frontiers in Plant Science.* 8 (697): 1-16. doi: 10.3389/fpls.2017.00697.
- Wang X, Yan Y, Li X, Chu X, Wu C, Guo X. 2014. GhWRKY40, a Multiple stress-responsive cotton WRKY gene, play an important role in the wounding response and enhances susceptibility to *Ralstonia solanacearum* infection in transgenic *Nicotiana benthamiana*. *PLoS ONE.* 9(4): e93577.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

- Wehner G, Balko C, Humbeck K, Zyprian E, Ordon F. 2016. Expression profiling of genes involved in drought stress and leaf senescence in juvenile barley. *BMC Plant Biology*. 16:3. doi: 10.1186/s12870-015-0701-4.
- Weingartner M, Criqui M-C, Mészáros T, Binarova P, Schmit A-C, Helfer A, Derevier A, Erhardt M, Bögre L, Genschik P. 2004. Expression of nondegradable cyclin B1 affects plant development and leads to endomitosis by inhibiting the formation of a phragmoplast. *Plant Cell*. 16: 643–657.
- Wen Y, Cheng Z. 2012. Research progress on polyploid induction in garlic. *China VegeTabels*. 22: 8-16.
- Winaryo KAP, Sugiharto AN, Ainurrasjid. 2016. Colchicine phenotypic observation in 2 lines of maize (*Zea mays* L.) as a result of kolkisina treatment. *Jurnal Produksi Tanaman*. 4(2): 161 - 168.
- Wistiani Luh AJ. 2014. Induksi mutasi kromosom dengan kolkisina pada tanaman kesuna bali (*Allium Sativum* Linn.) dan analisa DNA dengan marka RAPD. [Tesis]. Bali (ID): Universitas Udayana.
- Yang C, Ye Y, Song C, Chen D, Jiang B, Wang Y. 2016. Cloning and functional identification of the AcLFY gene in *Allium cepa*. *Biochem Biophys Res Commun*. 473 (4):1100–1105.
- Yang J, Yang X, Kuang Z, Li B, Lu X, Cao X, Kang J. 2020. Selection of suitable reference genes for qRT-PCR expression analysis of *Codonopsis pilosula* under different experimental conditions. *Mol Biol Rep*. 47: 4169–4181. <https://doi.org/10.1007/s11033-020-05501-8>.
- Yang Z, Chen L, Kohnen MV, Xion B, Zhen X, Liao J, Okaz Y, Zhu Q, Guz L, Lin C, Liu B. 2019. Identification and characterization of the PEBP family genes in Moso bamboo (*Phyllostachys heterocycla*). *Nature Scientific Report*. 9:14998. doi: 10.1038/s41598-019-51278-7
- Yildiz M. 2013. Plant responses at different ploidy levels agricultural and biological sciences. In: Silva-Opps, M. (Ed.), *Current Progress in Biological Research*. 363–385. doi: <http://dx.doi.org/10.5772/45632>.
- Yuliani F. 2017. Respon morfologi dan fisiologi tanaman bawang merah (*Allium cepa* L.) terhadap cekaman salinitas. [Tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Yu T, Wang Z, Jin X, Liu X, Kan S. 2014. Analysis of gene expression profiles in response to *Sporisorium reilianum* f. sp. zae in maize (*Zea mays* L.). *Electron. J. Biotechnol*. 17 (5): 230-237.
- Yu Y, Lee C, Kim J, Hwang S. 2005. Group-specific primer and probe sets to detect methanogenic communities using quantitative real-time polymerase chain reaction. *Biotechnol Bioeng*. 89:670–679.
- Yu Y, Zhang G, Chen Y. *et al.* 2019. Selection of reference genes for qPCR analyses of gene expression in ramie leaves and roots across eleven abiotic/biotic treatments. *Sci Rep*. 9: 20004. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56640-3>.
- Zhang L, Jiangtao L, Chen W, Baolong L, Zehong Y., Bo Zhang, Huagang Z., Youliang Z., Dengcai Liu, Yang Y. 2010. Synthesizing double haploid hexaploid wheat populations a spontaneous allopolyploidization process. *Journal of Genetics and Genomics*. 38 : 89-94.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



- Zheng XM, Wu FQ, Zhang X, Lin QB, Wang J, Guo XP, Lei CL, Cheng ZJ, Zou C, Wan JM. 2016. Evolution of the PEBP gene family and selective signature on *FT*-like clade. *J Syst Evol.* 54:502–510
- Zheng Y, Luo L, Liu Y, Yang Y, Wang C, Kong X, Yang Y. 2018. Effect of vernalization on tuberization and flowering in the Tibetan turnip is associated with changes in the expression of FLC homologues. *Plant Diversity.* 40: 50-56.
- Zhou S, Jiang L, Guan S, Gao Y, Gao Q, Wang G, Duan K. 2017. Expression profiles of five *FT* -like genes and functional analysis of Ph*FT*-1 in a *Phalaenopsis* hybrid. *Electronic Journal of Biotechnology.* 31: 75-83.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumpukan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

## RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di kota Lamongan pada 17 September 1991 sebagai anak ke empat dari tujuh bersaudara pasangan bapak Muslih Choiron (Alm) dan ibu Muyassaroh. Pendidikan sarjana ditempuh di Universitas Muhammadiyah Malang Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian dan Peternakan, dan lulus pada tahun 2015. Kesempatan untuk melanjutkan ke program magister pada program studi Pemuliaan dan Bioteknologi Tanaman Sekolah Pascasarjana IPB diperoleh pada tahun 2015 dengan biaya sendiri.

Penulis pernah bekerja sebagai pekerja paruh waktu di Japan Plant Co.Ltd & Ayaka Trading di Jepang dari Desember 2019-Juli 2020. *Liaison Officer* di *International Collaboration Office* Fakultas Pertanian, IPB University dari bulan Februari hingga September 2019. Instruktur, Asisten Pengajar dan Asisten Peneliti, laboratorium Kimia Universitas Muhammadiyah Malang (UMM) pada tahun 2015-2017. Asisten Peneliti Laboratorium Jurusan Agronomi, UMM tahun 2014-2015. Guru Sukarela, Yayasan Sosial Darul Azhar, Malang tahun 2014-2016. Asisten Laboratorium, Laboratorium Kimia, UMM tahun 2012-2015. Staf administrasi Wisata Bahari Lamongan tahun 2010-2011. Staf *food and beverage* Tanjung Kodok Beach Resort Wisata Bahari Lamongan tahun 2009-2011.

Selama mengikuti program S-2, penulis aktif menjadi anggota PSDM himpunan mahasiswa pascasarjana (FORSCA) Agronomi dan Hortikultura dan anggota KONKRIT Mengajar kota Bogor. Penulis juga aktif dalam kegiatan internasional seperti program pertukaran pelajar *GSGES Spring semester Kyoto university* tahun 2018, Panitia symposium internasional IPB-KU 2018, program penelitian *6-months Sandwich Gifu University* pada tahun 2019-2020. Karya ilmiah berjudul "*Expression of FLOWERING LOCUS T-2 gene in shallot (Allium cepa var. aggregatum)*" masih dalam proses telaah di jurnal *Agronomy mdpi*.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.