



Hygiene

ISBN 978-979-95402-3-2

Perhimpunan Agronomi
Indonesia (PERAGI)

Fakultas Pertanian
Universitas Padjadjaran

PROSIDING

Simposium ■

**Peran Agronomi dalam Peningkatan Produksi Beras
dalam Program Ketahanan Pangan,
Tinjauan Masa Lalu dan Perspektif Masa Depan**

Seminar ■

**Pengembangan dan Optimalisasi Produksi
Komoditas Tanaman Pangan, Hortikultura,
Perkebunan dan Bioenergi**

**KONGRES IX
PERHIMPUNAN AGRONOMI INDONESIA (PERAGI)
Bandung, 15-17 November 2007**

Embriogenesis Somatik pada Bawang Merah

DINY DINARTI^{1*}, AGUS PURWITO¹, ANAS D. SUSILA¹ dan RAY TIRAN²

¹ Staf pengajar Departemen Agronomi dan Hortikultura Institut Pertanian Bogor

* Kontak person. Departemen Agronomi dan Hortikultura IPB, Jl Meranti, Kampus IPB Bogor +62 251 629 353

² Sarjana Pertanian Institut Pertanian Bogor

ABSTRAK

Penelitian bertujuan untuk mempelajari pengaruh pemberian 2,4-D terhadap pembentukan kalus embrionik dan mempelajari pengaruh jenis sitokinin terhadap perkembangan kalus embrionik menjadi embrio somatik bawang merah yang terbentuk melalui kultur *in vitro*. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Tanaman, Departemen Agronomi dan Hortikultura IPB.

Rancangan lingkungan yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK). Rancangan percobaan yang dipakai adalah *Repeated measurement* untuk pengamatan berulang dan rancangan percobaan faktorial untuk pengamatan yang dilakukan hanya sekali (hari berkalus). Faktor yang digunakan untuk Percobaan 1 (inisiasi kalus) adalah Varietas Bawang Merah (Bima Juna, Kuning Tablet, dan Timor), faktor kedua adalah Dosis 2,4-D (0.5 ppm, 1.5 ppm, dan 2.5 ppm). Pada percobaan 2, faktor yang digunakan selain Varietas Bawang Merah dan Dosis 2,4-D juga terdapat faktor Jenis Sitokinin (BA 10 ppm, Kinetin 1 ppm).

Kalus dapat terbentuk pada semua konsentrasi 2,4-D yang diaplikasikan. Perlakuan Bima Juna + 1,5 ppm 2,4-D menunjukkan performa presentase kalus paling baik di atas 80% mulai dari 1 MSP.

Aplikasi awal 2,4-D sebanyak 1,5 ppm menunjukkan rata-rata kemampuan untuk membentuk embrio hampir dua kali lebih banyak dibanding aplikasi awal 2,4 D dengan konsentrasi 0,5 ppm. Interaksi perlakuan antara varietas Kuning Tablet dengan dosis awal 2,4-D sebanyak 1,5 ppm dan penggunaan BAP 10 ppm menunjukkan pembentukan jumlah embrio somatik sekunder paling banyak. Pada semua kombinasi antara varietas dan perlakuan aplikasi awal 2,4-D dan macam sitokinin, semua eksplan dapat menghasilkan embrio.

Kata kunci : embriogenesis somatik, bawang merah, 2,4-D, BA, Kinetin

PENDAHULUAN

Bawang-bawangan merupakan salah satu keluarga sayuran penting dunia. Tanaman ini diduga berasal dari daerah mediteranian dan Asia Barat (Turki), walaupun di daerah tersebut tidak ditemukan species liarnya. Tanaman ini pertama dikenal di daratan Eropa kemudian menyebar ke seluruh dunia (Siemonsma dan Piluek, 1997). Dikenal berbagai species *Allium* dan yang terkenal dan banyak dipakai kegunaannya di Indonesia adalah *Allium cepa* grup *agregatum* atau *Allium ascalonicum* yang disebut bawang merah. Bawang merah merupakan sayuran yang diproduksi ketiga tertinggi setelah kacang panjang dan cabai.

Menurut data Direktorat Bina Program Tanaman Pangan dan Hortikultura (2006) produksi bawang merah berfluktuasi dan secara umum mengalami peningkatan

setiap tahunnya. Selain untuk keperluan konsumsi umbi bawang merah juga diperlukan untuk mencukupi kebutuhan bibit.

Bawang merah termasuk famili *liliaceae*, herba yang siklus hidupnya biannual, biasanya tumbuh dari bulb/umbi lapis, dengan tinggi tanaman mencapai 50 cm. Batangnya sangat pendek memampat membentuk *basal plate*. Umbi bawang merah terbentuk dengan cara pengembangan di sekitar bagian dasar sedikit dekat batang utama. Kecepatan pembentukan umbi lateral, setiap rumpun antara 3 –18 umbi. Setiap umbi dilapisi kulit tipis berwarna ungu-merah-coklat yang berfungsi sebagai pelindung. Umbi yang sudah siap panen berbentuk lonjong, bulat dengan diameter sekitar 5 cm dan sangat bervariasi dalam bentuk ukuran, warna dan berat (Siemonsma dan Piluek, 1997).

Terdapat lebih dari 20 varietas bawang merah lokal di Indonesia, dengan kultivar terbaik adalah Sumenep. Bawang merah umumnya diperbanyak secara vegetatif menggunakan umbi atau dengan biji (Siemonsma dan Piluek, 1997).

Teknik *in vitro* sudah dikenal luas dalam kemampuannya menyediakan sejumlah besar bibit tanaman dalam waktu yang relatif cepat, bebas dari patogen (jamur dan bakteri) atau virus, klonal dan tersedia tanpa dipengaruhi musim. Salah satu aspek yang menarik dan penting dalam kultur jaringan adalah kemampuan kultur untuk beregenerasi dan memperbanyak diri. Regenerasi tanaman dari kultur jaringan dapat dicapai dengan mengkulturkan bagian jaringan yang meristematis atau dari kalus. Regenerasi tanaman secara adventif yang berasal dari kalus dapat melalui dua cara yaitu: 1) organogenesis dengan membentuk organ (tunas dan akar) dan 2) embriogenesis somatik yang merupakan sel somatik yang berkembang melalui pembelahan sel dengan pembentukan struktur bipolar yang mengandung meristem tunas serta akar, dan dianalogikan seperti embrio zigotik (Phillips et al, 1995). Seperti perkembangan embrio, prosesnya melalui tahapan yang terstruktur yaitu globular, heart, torpedo, kotiledon dan kecambah.

Embrio somatik pada wortel dan beberapa species lainnya diinisiasi dengan cara yang sama yaitu melalui pembentukan kalus (Pierik, 1987). Induksi embriogenesis pada banyak species memerlukan konsentrasi auksin yang cukup tinggi pada media, biasanya digunakan 2,4-D. Sitokinin umumnya tidak diperlukan untuk menginduksi embriogenesis, tetapi pada beberapa species monokotil memerlukan sitokinin yang spesifik. Zheng *et al.* (2005) melaporkan bahwa pemberian 2,4-D sebanyak 1 ppm

ditambah 0.2 g/l kasein hidrolisat dapat menginduksi kalus bawang putih. Quintana-Sierra *et al.* (2005) menambahkan 2,4-D untuk induksi kalus embriogenik pada *Allium cepa* L.

Pada percobaan pertama bertujuan untuk mempelajari pengaruh pemberian auksin 2,4-D dan mendapatkan konsentrasi 2,4-D terbaik dalam menginduksi kalus embriogenik pada tiga kultivar bawang merah. Pada percobaan kedua bertujuan untuk mendapatkan jenis sitokinin yang terbaik dalam perkembangan kalus embriogenik menjadi embrio somatik.

BAHAN DAN METODA

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Tanaman Departemen Agronomi dan Hortikultura, Faperta Institut Pertanian Bogor.

Bahan tanaman yang digunakan adalah umbi bawang merah kultivar Bima Juna, Kuning Tablet dan Timor. Bahan lain yang digunakan adalah media MS, 2,4 D, BA, Kinetin, dan kasein hidrolisat. Untuk sterilisasi eksplan digunakan *chlorox*, *tween*, akuades steril, *betadine*.

Alat-alat yang digunakan adalah peralatan standar yang digunakan di laboratorium kultur jaringan untuk pembuatan media, sterilisasi media dan alat, serta penanaman di dalam laminar.

Penelitian disusun dalam Rancangan Acak Kelompok (RAK). Rancangan percobaan yang dipakai adalah *Repeated measurement* untuk pengamatan berulang dan rancangan percobaan faktorial untuk pengamatan yang dilakukan hanya sekali (hari berkalus). Pada Percobaan 1 (inisiasi kalus) faktor yang diujikan adalah Varietas Bawang Merah (V) Bima Juna, Kuning Tablet, dan Timor, faktor kedua adalah dosis 2,4-D (D) 0,5, 1,5, dan 2,5 ppm. Terdapat sembilan kombinasi perlakuan dengan empat ulangan sehingga terdapat 36 satuan percobaan. Setiap satuan percobaan terdiri atas enam botol yang masing-masing terdiri atas satu eksplan umbi ber*basal plate*.

Pada percobaan 2, faktor yang digunakan selain V dan D juga terdapat faktor macam sitokinin (S) yaitu BA 10 ppm dan Kinetin 1 ppm. Terdapat 27 kombinasi perlakuan dengan 3 ulangan. Setiap ulangan terdiri atas 3 pengamatan.

Untuk mengetahui pengaruh faktor tunggal dan interaksinya maka dilakukan uji F. Jika sidik ragam memberikan pengaruh yang nyata, selanjutnya dilakukan uji lanjut DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) pada taraf alfa 5%. Pengolahan data dilakukan dengan perangkat lunak *Statistical Analysis System (SAS)*.

Pelaksanaan Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penanaman disterilkan dalam autoklaf bersuhu 121°C dengan tekanan 17.5 psi selama 60 menit.

Dilakukan pembuatan larutan-larutan stok dari bahan-bahan kimia yang diperlukan dalam pembuatan media MS (Murashige dan Skoog). Kemudian larutan-larutan stok tersebut dipipet sesuai takaran yang diperlukan pada media MS ditambahkan ZPT sesuai dengan takaran yang diperlukan dan ditambahkan akuades sampai tanda

tera. pH media pada percobaan 1 dan 2 adalah 6.00. Setelah ditambahkan gula dan agar, media dimasak hingga mendidih dan dimasukkan dalam botol-botol kultur steril kemudian ditutup dengan menggunakan plastik bening dan diautoklaf dengan suhu 121°C dengan tekanan 17.5 psi selama 30 menit.

Penanaman dikerjakan dalam *Laminar Air Flow* yang telah dibersihkan dengan alkohol 70% dan disterilisasi ultraviolet selama minimal satu jam. Alat tanam disterilisasi dengan penggunaan alkohol 70% kemudian dibakar sebelum dipergunakan dalam penanaman eksplan. Eksplan yang dipergunakan adalah umbi bawang merah dengan *basal plate* yang telah disterilisasi menggunakan kloroks 30% selama 20 menit, kloroks 10% selama 10 menit dan kloroks 5% selama lima menit.

Pengamatan kultur dilakukan setiap minggu. Pada setiap percobaan pengamatan dilakukan selama empat minggu sehingga total masa pengamatan (percobaan 1 dan 2) selama 8 minggu. Peubah yang diamati antara lain:

1. Hari Berkalus, Persentase Kalus (Percobaan Satu)
2. Jumlah Embrio, Persentase Eksplan Membentuk embrio (Percobaan Dua)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Percobaan Inisiasi Kalus Bawang Merah

Hari Berkalus

Pertumbuhan kalus mulai teramati pada 5 Hari Setelah Tanam (HST). Kalus yang terbentuk berupa kalus kompak, berwarna kuning jernih, tembus cahaya, dan mudah pecar.

Tabel 1. Hari Berkalus pada Berbagai Varietas Bawang Merah dan Dosis 2,4-D

Varietas	Dosis 2,4-D			Rataan
	0,5	1,5	2,5	
	Hari			
Bima Juna	8,0	6,6	10,8	8,4
Kuning Tablet	7,8	11,1	12,8	10,6
Timor	10,0	10,8	11,25	10,7
Rataan	8,6	9,5	11,6	9,9

Keterangan: Angka-angka yang tercantum tidak berbeda nyata pada uji DMRT 5%

Tabel 1 menunjukkan bahwa pengaruh varietas dan dosis 2,4 D tidak berbeda nyata terhadap peubah waktu berkalus. Hal ini menunjukkan bahwa semua varietas memiliki respon yang sama untuk membentuk kalus. Nilai tengah-nilai tengah pada setiap varietas menunjukkan bahwa varietas Bima Juna menunjukkan kemunculan kalus yang paling cepat, diikuti oleh Varietas Kuning Tablet dan Timor. Berdasarkan hasil analisis ragam semua dosis 2,4-D mampu menginduksi kalus dengan waktu yang tidak berbeda nyata.

Persentase Berkalus

Berdasarkan hasil analisis ragam, faktor tunggal varietas memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap persentase pembentuk kalus. Kalus mulai tumbuh pada

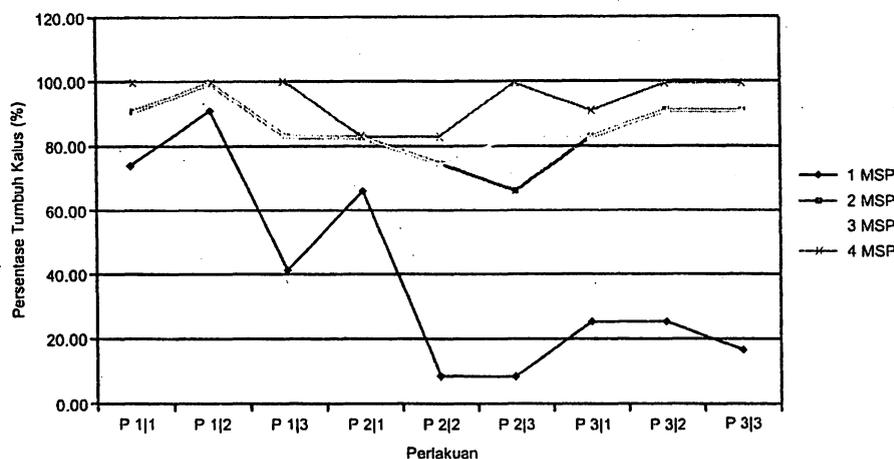
minggu pertama. Tabel 2 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan diantara varietas-varietas yang diberi perlakuan. Bima Juna menunjukkan persentase pembentukan kalus terbaik dibanding Kuning Tablet dan Timor. Faktor dosis 2.4 D tidak berpengaruh nyata terhadap persentase eksplan berkalus.

Tabel 2. Persentase Eksplan Berkalus

Varietas	Rata-rata Persentase Berkalus
Bima Juna	88,20 a
Kuning Tablet	74,31 b
Timor	68,06 b

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji DMRT 5%

Interaksi antara varietas dengan dosis 2.4 D memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap persentase berkalus (Gambar 1). Hal ini menunjukkan bahwa efektifitas auksin untuk membentuk kalus tergantung pada varietas yang digunakan. Adanya perbedaan respons akibat interaksi antara varietas dan perlakuan 2.4 D diduga karena perbedaan kandungan auksin endogen pada eksplan antara varietas. Gunawan (1992) mengatakan bahwa interaksi dan perimbangan antara zat pengatur tumbuh yang ditambahkan ke dalam medium dan yang diproduksi oleh sel secara endogen akan menentukan arah perkembangan suatu kultur. Penambahan auksin pada medium akan mengubah nisbah zat pengatur tumbuh endogen yang kemudian menjadi faktor penentu untuk proses pertumbuhan dan morfogenesis dari eksplan.



Keterangan:

P 1|1 : Bima Juna + 0,5 ppm 2,4-D; P 1|2 : Bima Juna + 1,5 ppm 2,4-D; P 1|3 : Bima Juna + 2,5 ppm 2,4-D
 P 2|1 : Kuning Tablet + 0,5 ppm 2,4-D; P 2|2 : Kuning Tablet + 1,5 ppm 2,4-D; P 2|3 : Kuning Tablet + 2,5 ppm 2,4-D
 P 3|1 : Timor + 0,5 ppm 2,4-D; P 3|2 : Timor + 1,5 ppm 2,4-D; P 3|3 : Timor + 2,5 ppm 2,4-D

Gambar 1. Grafik Interaksi Varietas dengan Dosis 2,4-D terhadap Persentase Kalus

Percobaan Embriogenesis Somatik Bawang Merah
Rata-rata Jumlah Embrio Somatik

Keberhasilan regenerasi melalui embriogenesis somatik dipengaruhi oleh berbagai faktor, antara lain formulasi media yang berbeda pada setiap tahap perkembangan embrio somatik serta jenis eksplan yang digunakan (Sukmadajaja, 2005).

Tabel 4. Rata-rata Jumlah Embrio pada Setiap Varietas Bawang Merah

Varietas	Rata-rata Jumlah Embrio
Bima Juna	8,33 b
Kuning Tablet	14,11 a
Timor	11,86 ab

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji DMRT 5%

Nilai rata-rata dari faktor varietas terhadap rata-rata jumlah embrio ditunjukkan pada Tabel 4. Varietas Kuning Tablet menghasilkan jumlah embrio satu setengah kali lebih banyak dibandingkan dengan Varietas Bima Juna. Hal ini mengindikasikan bahwa terdapat faktor genetik yang berpengaruh terhadap pembentukan embrio.

Pengaruh aplikasi awal 2,4-D ternyata menunjukkan pengaruh yang sangat nyata terhadap pembentukan embrio somatik (Tabel 5). Aplikasi awal 2,4-D sebanyak 1,5 ppm menunjukkan rata-rata kemampuan untuk membentuk embrio hampir dua kali lebih banyak dibanding dengan aplikasi 0,5 ppm. Penurunan rata-rata jumlah embrio pada aplikasi awal 2,4-D sebanyak 2,5 ppm, kemungkinan disebabkan kandungan auksin endogen yang ada pada eksplan sehingga penambahan 2,4-D dari sumber eksogen akan menyebabkan auksin berlebih yang dapat beralih menjadi zat toksik bagi tanaman sehingga berpotensi menghambat pertumbuhan.

Tabel 5. Rata-rata Jumlah Embrio Somatik dari Tiga Dosis 2,4-D

Aplikasi Awal 2,4-D	Rata-rata Jumlah Embrio
0,5	7,89b
1,5	15,60a
2,5	11,86ab

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji DMRT 5%

Terdapat pengaruh yang sangat nyata pula pada interaksi antara faktor varietas, aplikasi awal 2,4-D dan sitokinin. Interaksi perlakuan antara varietas Timor dengan dosis awal 2,4-D sebanyak 1,5 ppm dan penggunaan BAP 10 ppm menunjukkan jumlah embrio somatik sekunder paling banyak (Tabel 6).

Tabel 6. Interaksi kombinasi antara Varietas, Dosis 2.4 D dan Macam Sitokinin terhadap Jumlah Embrio Somatik Sekunder

Varietas	Dosis Awal 2,4-D	Jenis Sitokinin	Jumlah Embrio Somatik Sekunder
Bima Juna	0,5	BAP	5,67
Bima Juna	0,5	Kinetin	4,25
Bima Juna	1,5	BAP	8,42
Bima Juna	1,5	Kinetin	10,92
Bima Juna	2,5	BAP	9,92
Bima Juna	2,5	Kinetin	10,83
Kuning Tablet	0,5	BAP	5,00
Kuning Tablet	0,5	Kinetin	16,42
Kuning Tablet	1,5	BAP	23,50
Kuning Tablet	1,5	Kinetin	12,00
Kuning Tablet	2,5	BAP	12,67
Kuning Tablet	2,5	Kinetin	15,08
Timor	0,5	BAP	8,00
Timor	0,5	Kinetin	8,00
Timor	1,5	BAP	21,83
Timor	1,5	Kinetin	16,92
Timor	2,5	BAP	11,17
Timor	2,5	Kinetin	11,50

Keberhasilan regenerasi melalui embriogenesis somatik dipengaruhi oleh berbagai faktor, antara lain formulasi media yang berbeda pada setiap tahap perkembangan embrio somatik serta jenis eksplan yang digunakan. Pada tahap pembentukan struktur globular dan hati sering digunakan zat pengatur tumbuh sitokinin seperti benzyladenin (BA) atau yang mempunyai peran fisiologis yang sama (Sukmadjaja, 2005). Percobaan menunjukkan menunjukkan bahwa penggunaan BAP dan Kinetin dapat merangsang pembentukan embrio sampai pada tahap kotiledon. Walaupun pengaruh BAP dan Kinetin tidak berbeda nyata pada percobaan ini. Pengaruh

lebih baik dari BAP dapat dilihat dari morfologi embrio yang lebih besar dan normal, sedangkan Kinetin menunjukkan embrio yang lebih ramping.

KESIMPULAN

Kalus dapat terbentuk dengan pada semua taraf 2.4 D yang digunakan.

- Perlakuan Bima Juna + 1,5 ppm 2,4-D menunjukkan performa presentase kalus paling baik, dengan presentase di atas 80% mulai dari 1 MSP.
- Aplikasi awal 2,4-D sebanyak 1,5 ppm menunjukkan rata-rata kemampuan untuk membentuk embrio hampir dua kali lebih
- Interaksi perlakuan antara varietas Timor dengan dosis awal 2,4-D sebanyak 1.5 ppm dan penggunaan BAP 10 ppm menunjukkan rata-rata paling baik pada peubah jumlah embrio somatik sekunder
- Pada semua kombinasi antara varietas dan perlakuan aplikasi awal 2,4-D dan macam sitokinin, semua eksplan dapat menghasilkan embrio.

DAFTAR PUSTAKA

- Direktorat Bina Program Tanaman Pangan dan Hortikultura. 2006. Produksi Tanaman Pangan dan Hortikultura : Bawang Merah. Departemen Pertanian
- Gunawan, L. W. 1992. Teknik Kultur Jaringan. Laboratorium Kultur Jaringan. Pusat Antar Universitas. IPB. Bogor. 252 hal..
- Perik, R.L.M. 1987. In Vitro of Higher Plants. Martunis Nijhoff. Publ. Dordrecht. 344p
- Phillips, G.C., J.F. Hubstenberger and E.E. Hansen. 1995. Plants regeneration from callus and cell suspension cultures by somatic embryogenesis. p. 81-90 In. G.C. Phillips and O.L. gamborg. (eds.). Plant Cell Tissue and Organ Culture. Springer Verlag. Berlin.
- Quintana-Sierra, M. E., A. Robledo-Paz, A. Santacruz-Varela, M. A. Gutiérrez-Espinosa, G. Carrillo-Castañeda y, and J. L. Cabrera-Ponce. 2005. Regeneration *in vitro* de plantas de cebolla (*Allium cepa* L.). *Agrociencia* 39: 647-655..
- Siemonsma and, J. Piluek. 1997. Vegetable. PROSEA
- Sukmadjaja, D. 2005. Embriogenesis somatik langsung pada tanaman cendana. *Jurnal Bioteknologi Tanaman* 10(1):1-6.
- Zheng, S., B. Henken, R. A. de Maagd, A. Purwito, F. A. Krens, and C. Kik. 2005. Two different *Bacillus thuringiensis* toxin genes confer resistance to beet armyworm (*Spodoptera exigua* Hubner) in transgenic *BT*-shallots (*Allium cepa* L.). *Transgenic Research* 14:261-267.