

INDUKSI KALUS EMBRIOGENIK BAWANG PUTIH (*Allium sativum* L.) SECARA *IN VITRO*

Singgih Tri Wardana
Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sriwijaya

ABSTRAK

*Penelitian tentang induksi kalus embriogenik bawang putih (*Allium sativum* L.) secara in vitro telah dilakukan. Hasil yang diperoleh bahwa jenis auksin (2,4-D dan NAA) dengan konsentrasi yang berbeda (0,5 dan 1,5 mg/l) berpengaruh nyata terhadap induksi kalus embriogenik dan kalus friabel. Jenis auksin 2,4-D dan NAA masing-masing dengan konsentrasi 1,5 mg/l merupakan yang terbaik dalam menginduksi kalus embriogenik dan kalus friabel. Kalus embriogenik yang terbentuk bertekstur friabel dan berwarna kuning, serta perkembangan embrio somatik pada stadium globuler.*

PENDAHULUAN

Bawang putih (*Allium sativum* L.) merupakan salah satu komoditi sayuran yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat, serta mendapat prioritas untuk dikembangkan karena nilai gizinya dan kandungan senyawa alisin yang dapat dimanfaatkan untuk bahan baku obat-obatan, yaitu sebagai antibiotik, antitumor, antitrombin dan menurunkan kolesterol (Ayabe dan Sumi, 1998).

Selama ini perbanyakan tanaman bawang putih dilakukan secara vegetatif, yaitu dengan menggunakan umbi (*bulbus*). Sedang dimasa sekarang ini diperlukan efektivitas dalam menghasilkan produk,

antara lain dalam usaha untuk mendapatkan bibit tanaman baru dengan jumlah besar dan dalam waktu singkat. Perbanyakan secara konvensional untuk sementara waktu ini masih mampu menanggulangi persoalan tersebut, tetapi sebagai akibatnya adalah tanaman yang dihasilkan tidak seragam, jumlah produksi yang belum mencukupi kebutuhan, serta penyebaran virus yang tidak terkendali (Ayabe dan Sumi, 1998). Sehingga diperlukan suatu teknologi perbanyakan tanaman yang dapat mengatasi kelemahan-kelemahan dari perbanyakan tanaman secara konvensional tersebut.

Usaha untuk mengatasi kendala yang dijumpai pada perbanyakan secara

konvensional tanaman bawang putih adalah dengan teknik kultur *in vitro* yaitu melalui embriogenesis somatik. Menurut Dunstan *et al.* (1995) embriogenesis somatik secara *in vitro* merupakan pilihan perbanyakan vegetatif yang tepat, efisien dan lebih praktis untuk perbanyakan klonal, karena dapat diperoleh tanaman yang seragam dalam jumlah besar. Hal ini disebabkan karena embrio somatik yang dihasilkan bersifat bipolar seperti embrio zigotik, yaitu calon tunas dan calon akar terbentuk secara bersamaan sehingga tahap perakaran tidak diperlukan.

Perbanyakan tanaman melalui embriogenesis somatik secara *in vitro* melalui beberapa tahapan, meliputi tahap induksi kalus embriogenik, pemasakan (diferensiasi) embrio somatik, dan perkecambahan (organogenesis) embrio somatik (George dan Sherrington, 1984).

Faktor yang mempengaruhi embriogenesis somatik termasuk induksi kalus embriogenik salah satunya adalah zat pengatur tumbuh yang ditambahkan dalam media dasar. Zat pengatur tumbuh yang sering digunakan adalah auksin dan sitokinin (Pierik, 1987 ; George dan Sherrington, 1984).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh jenis dan konsentrasi auksin yang berbeda (2,4-D dan NAA) terhadap induksi kalus embriogenik *Allium sativum* L. secara *in vitro*. Manfaat yang diharapkan dari hasil penelitian ini adalah sebagai informasi dasar studi embriogenesis somatik, khususnya pada *Allium sativum* L.. Dan sebagai alternatif metode perbanyakan klonal *Allium sativum* L..

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah umbi bawang putih varietas lumbu putih, medium MS, sukrosa, *bacto agar*, 2,4-D, NAA, BA, Na hipoklorit, alkohol 95%, spirtus, *alumunium foil*, kertas pH, akuades, kertas payung. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik, *hot plate magnetic stirrer*, *laminar air flow cabinet*, autoklaf, erlenmeyer, pinset, skalpel, botol kultur, cawan petri, mikroskop cahaya, mikroskop stereo. Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap dengan 5 perlakuan. Masing-masing perlakuan diulang 12 kali. Perlakuan-perlakuan dalam penelitian ini sebagai berikut :

K = medium MS (kontrol)

P1 = medium MS + 0,5 mg/l 2,4-D + 0,25 mg/l BA

P2 = medium MS + 1,5 mg/l 2,4-D + 0,25 mg/l BA

P3 = medium MS + 0,5 mg/l NAA + 0,25 mg/l BA

P4 = medium MS + 1,5 mg/l NAA + 0,25 mg/l BA

Sterilisasi alat : alat-alat yang terbuat dari gelas dan logam dicuci bersih, dikeringkan, dan dibungkus dengan kertas payung, sedang untuk botol kultur dan erlenmeyer ditutup dengan alumunium foil. Semua alat tersebut disterilisasi dalam autoklaf (temperatur 121°C, tekanan 1 atm) selama 20 menit.

Pembuatan medium kultur : Bahan-bahan dasar medium MS ditimbang dan dilarutkan dalam akuades serta ditambahkan zat pengatur tumbuh sesuai perlakuan seperti di atas, kemudian dipanaskan. Medium yang sudah dipanaskan diukur pH nya berkisar 5,6-5,8, kemudian dituangkan kedalam botol-botol kultur. Botol-botol kultur tersebut ditutup dengan alumunium foil lalu disterilisasi dalam autoklaf selama 15 menit.

Sumber eksplan dan sterilisasi eksplan : sejumlah umbi bawang putih yang berukuran sama ditumbuhkan pada kapas

basah pada suhu kamar. Setelah daun tumbuh 1 cm dari umbi, daun tersebut dipisahkan dari umbinya sampai ke bagian basal dalam umbi. Daun muda tersebut disterilisasi dengan Na hipoklorit 9 % selama 10 menit kemudian dilanjutkan dengan perendaman dalam alkohol 70 % selama satu menit, dan dicuci dengan akuades steril 3 kali. Daun bagian basal dipotong tegak lurus dengan ukuran 1 cm secara aseptik, dan digunakan sebagai eksplan.

Penanaman eksplan dan subkultur : eksplan yang telah disterilisasi ditanam dalam botol kultur yang berisi medium induksi kalus. Tiap botol kultur berisi satu potongan eksplan, kemudian ditempatkan dalam ruang inkubasi dengan temperatur 25°C dan penerangan dengan lampu TL 40 w. Eksplan disubkultur setiap 3 minggu sekali dan diamati perkembangannya setiap hari secara visual.

Pada penelitian ini digunakan parameter pengamatan baik secara kuantitatif dan kualitatif. Parameter secara kuantitatif adalah kalus embriogenik (%) dan kalus friabel (%). Parameter secara kualitatif adalah warna kalus dan stadium perkembangan embrio somatik.

Data yang bersifat kuantitatif dianalisis dengan sidik ragam pada taraf 5 %, jika ada perbedaan yang nyata dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf 5 %. Data yang bersifat kualitatif dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Embrio somatik dapat diperoleh secara *in vitro* keberadaan kalus sangat penting, karena kalus merupakan salah satu bahan dasar yang penting untuk mengamati dan mempelajari adanya struktur yang menyerupai embrio zigotik pada budidaya jaringan. Kalus juga merupakan material yang sangat berguna untuk mempelajari perkembangan yang terorganisasi dari sel,

jaringan, apabila disubkultur dalam interval waktu dan pada medium tertentu.

Pada penelitian ini digunakan parameter berupa kalus embriogenik dan kalus friabel, karena kalus hasil penelitian ini selanjutnya digunakan dalam kultur suspensi untuk memacu perkembangan embrio somatik. Menurut Pierik (1987) dan George (1993) kultur suspensi untuk tujuan pemasakan embrio somatik memerlukan kalus bertekstur friabel dan embriogenik.

Berdasar analisis sidik ragam yang telah dilakukan terdapat pengaruh yang nyata antara jenis dan konsentrasi auksin terhadap induksi kalus embriogenik dan kalus friable. Hasil analisis uji BNT disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengaruh konsentrasi 2,4-D dan NAA terhadap induksi kalus embriogenik bawang putih, umur 6 minggu.

No	Auksin (mg/l)	Kalus embriogenik (%)	Kalus Friabel (%)
1	Kontrol	0,0 ^a	0,0 ^a
2	2,4-D 0,5	30,7 ^b	30,7 ^b
3	2,4-D 1,5	83,3 ^c	100 ^c
4	NAA 0,5	20,8 ^b	20,8 ^b
5	NAA 1,5	70,3 ^c	100 ^c

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata pada uji LSD 5 %.

Data pada Tabel 1. diketahui bahwa perlakuan auksin jenis 2,4-D dan NAA dengan konsentrasi 1,5 mg/l merupakan yang terbaik dalam

menginduksi kalus embriogenik dan kalus friabel. Hal ini menunjukkan bahwa auksin jenis 2,4-D dan NAA dengan konsentrasi 1,5 mg/l sangat efektif untuk menginduksi kalus embriogenik dan kalus friabel pada eksplan tunas daun bawang putih secara *in vitro*.

Hal ini dapat dijelaskan dengan pendapat Raghavan (1997) yang menyatakan bahwa sel berkompeten menjadi embriogenik tergantung pada tingkat awal diferensiasi dan kondisi lingkungan tertentu. Kondisi tersebut terutama interaksi antara zat pengatur tumbuh eksogen dan endogen pada tingkat seluler, sehingga menjadi trigger yang dapat mempengaruhi ekspresi gen dalam menentukan embriogenesis somatik.

Selanjutnya Raghavan (1997) menjelaskan bahwa auksin mampu mengaktivasi sinyal transduksi sehingga sel dapat mengadakan pemrograman kembali ekspresi gen dan menginduksi pembelahan sel menuju pertumbuhan kalus atau embriogenesis.

Data pada Tabel 1. menunjukkan pula bahwa konsentrasi auksin (2,4-D dan NAA) 0,5 mg/l belum optimal dalam menginduksi kalus

embriogenik dan kalus friabel. Menurut George (1993) konsentrasi auksin berpengaruh pada induksi embriogenesis somatik, pembentukan proembrio pada umumnya terjadi dalam medium dengan konsentrasi auksin yang cukup tinggi, yaitu antara 1 mg/l - 5 mg/l.

Berdasarkan pengamatan pada morfologi kalus yang terbentuk, terdapat perbedaan karakteristik kalus yang bersifat embriogenik dan non embriogenik. Menurut Pierik (1987) bahwa morfologi dan sifat kalus umumnya melibatkan suatu hubungan yang kompleks antara eksplan yang digunakan, komposisi medium, dan kondisi lingkungan kultur.

Karakteristik kalus embriogenik *A.sativum* dalam penelitian ini antara lain bertekstur friabel, berwarna kuning, dan perkembangan embrio somatik pada stadium globuler. Sedang kalus non embriogenik bertekstur kompak, pertumbuhan kalus lambat, dan berwarna putih (Tabel 2.).

Tabel 2. Pengaruh konsentrasi 2,4-D dan NAA terhadap morfologi kalus bawang putih, umur 6 minggu.

No	Auksin (mg/l)	Morfologi kalus		
		Pertumbuhan kalus	Warna kalus	Stadium Embrio somatik
1	Kontrol	Tidak tumbuh kalus	-	-
2	2,4-D 0,5	baik	Putih, Kuning	Globuler
3	2,4-D 1,5	baik	Kuning	Globuler
4	NAA 0,5	kurang	Putih, Kuning	Globuler
5	NAA 1,5	baik	Kuning	Globuler

KESIMPULAN

Jenis auksin (2,4-D dan NAA) dengan konsentrasi yang berbeda (0,5 dan 1,5 mg/l) berpengaruh nyata terhadap induksi kalus embriogenik dan kalus friabel. Jenis auksin 2,4-D dan NAA masing-masing dengan konsentrasi 1,5 mg/l merupakan yang terbaik dalam menginduksi kalus embriogenik dan kalus friabel. Kalus embriogenik yang terbentuk bertekstur friabel dan berwarna kuning, serta perkembangan embrio somatik pada stadium globuler.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai perkembangan embrio somatik dengan menggunakan kultur suspensi

untuk memperoleh embrio somatik yang sempurna.

DAFTAR PUSTAKA

- Ayabe, M. dan S. Sumi, 1998. Establishment of novel tissue culture method stem-disc culture and its practical application to micropropagation of garlic (*Allium sativum* L.). *Plant Cell Rep.* 17: 773-779.
- Dunstan, D.I., T.E. Tautoris, dan I.A. Thorpe, 1995. Somatic Embryogenesis in woody plant. In: T.A. Thorpe (eds.) *In vitro embryogenesis in plant*. Kluwer Acad. Pub., Dordrecht. P: 471-540.



George, E.F. dan P.D. Sherrington, 1984.
Plant propagation by tissue culture. Exegetic Limited, England. P: 125-181, 225.

Pierik, R.L.M., 1987. *Invitro culture of higher plants.* Martinus Nijhoff Publisher. Dordrecht. P: 69-71, 220.

Raghavan, V., 1997. *Molecular embryology of flowering plants.* Cambridge University Press, New York. P: 467-499