

Organogenesis Tanaman Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.) Menggunakan Umbi Secara *In Vitro* pada Media Dasar Murashige and Skoog yang Diperkaya Vitamin B5 dengan *Naftalene Acetic Acid* dan *6-Benzyl Amino Purine*

KATARINA IKA NOVIANITA
MADE SRITAMIN*)
I WAYAN ADIARTAYASA

Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Udayana
Jl. PB. Sudirman Denpasar Bali 80231

*)Email: madesritamin@gmail.com

ABSTRACT

Organogenesis of Shallot Plant (*Allium ascalonicum* L.) Using Shallot Bulb with *In Vitro* Method on Murashige and Skoog Basic Media that Enriched by Vitamin B5 with *Naftalene Acetic Acid* and *6-Benzyl Amino Purine*

This study was conducted to determine the effect of the combination of NAA (*Naftalene Acetic Acid*) and BAP (*6-Benzyl Amino Purine*) in MS media which can stimulate organogenesis in the onion (*Allium ascalonicum* L.) Biru Lancor variety in vitro. This experiment used four treatments, namely P1 (NAA 1 mg / L + BAP 2 mg / L), P2 (NAA 2 mg / L + BAP 2 mg / L), P3 (Vitamin B5 + NAA 1 mg / L + BAP 1) mg / L), and P4 (Vitamin B5 + NAA 2 mg / L + BAP 2 mg / L). Based on observations made on the growth and development of onion bulbs in vitro, treatment P3 with the combination of concentration 1 mg / L NAA and 1 mg/L BAP with the addition of vitamin B5 can stimulate organogenesis well to the number of leaf shoots, leaf length, number of roots and root length. This media provides the best results for the observed parameters compared to other treatments.

Keywords: *Allium ascalonicum* L., NAA, BAP, MS, Vitamin B5

1. Pendahuluan

1.1 Latar Belakang

Bawang merah merupakan komoditi hortikultura yang tergolong sayuran rempah dan dibutuhkan sebagai pelengkap bumbu masakan untuk menambah cita rasa makanan. Menurut Rukmana (1994) menjelaskan bahwa bawang merah termasuk komoditas utama dalam prioritas pengembangan tanaman sayuran dataran rendah di Indonesia. Pada

umumnya bawang merah diperbanyak dengan menggunakan umbi sebagai bibit. Kualitas umbi bibit merupakan salah satu faktor yang menentukan tinggi rendahnya hasil produksi bawang merah. Kelemahan bibit asal umbi adalah sering kali membawa penyakit virus yang ditularkan dari tanaman asal yang terserang sehingga produktivitasnya menurun (Sumarni *et al.*, 2005). Salah satu teknologi alternatif yang dapat digunakan untuk menghasilkan bibit unggul adalah dengan teknik kultur jaringan.

Melalui teknik kultur jaringan diharapkan kendala tersebut dapat diatasi. Menurut Gunawan (1992), metode ini mampu menghasilkan tanaman yang berkualitas tinggi dalam jumlah yang besar dan dalam waktu yang relatif singkat. Teknik ini akan sangat menguntungkan petani dalam menyediakan bibit bawang merah (Gunawan, 1992), metode ini mampu menghasilkan tanaman yang berkualitas tinggi dalam jumlah yang besar dan dapat dilakukan dalam waktu yang relatif singkat serta bebas dari patogen (jamur dan bakteri) atau virus.

2. Metode Penelitian

2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Sumber Daya Genetika, Gedung Pascasarjana, Universitas Udayana di Jalan PB Sudirman, Denpasar. Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari 2019 - April 2019.

2.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoklaf, oven listrik, timbangan analitik, botol kultur, gelas ukur, cawan Petri, pinset, pisau bedah (*scalpel*), *hand sprayer*, *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), serta alat dokumentasi.

Sumber eksplan yang digunakan adalah umbi bawang merah varietas Biru Lancor yang diperoleh dari UPTD Balai Benih Induk Tanaman Pangan Luwus, Baturiti dengan pengambilan secara destruktif. Bahan lain yang digunakan meliputi bahan kimia yakni media MS, NAA, BAP, vitamin B5, aquades steril, sukrosa, gellun gum, dan alkohol 70%. Bahan untuk sterilisasi eksplan yaitu deterjen, fungisida Benlate, kloroks, tween, *betadine*, dan bakterisida.

2.3 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian dilakukan dengan menggunakan 4 perlakuan dan 3 pengulangan yaitu : P1 (NAA 1 mg/L + BAP 1 mg/L), P2 (NAA 2 mg/L + BAP 2 mg/L), P3 (B5 + NAA 1 mg/L + BAP 1 mg/L), dan P4 (B5 + NAA 2 mg/L + BAP 2 mg/L).

2.4 Sterilisasi Alat

Peralatan yang meliputi botol kultur, pinset, *scalpel*, labu Erlenmeyer, *beaker glass*, dan cawan petri yang hendak digunakan dicuci bersih menggunakan deterjen

kemudian disimpan dalam rak agar kering. Setelah semua peralatan sudah kering, peralatan dibungkus rapi dengan menggunakan kertas kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 17,5 psi selama 30 menit.

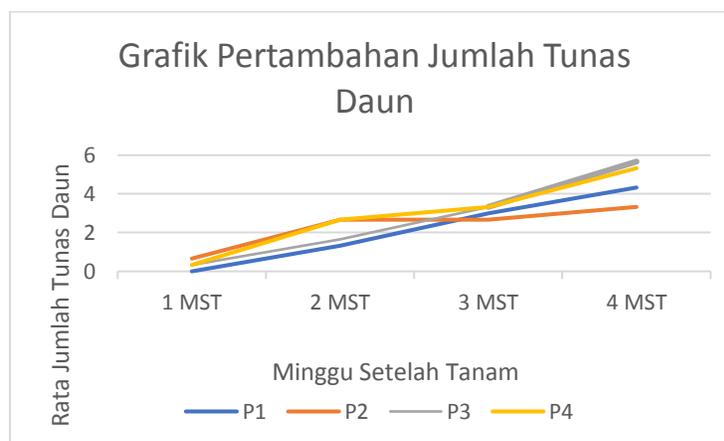
2.5 Sterilisasi Bahan

Pada sterilisasi bahan, eksplan berupa umbi bawang merah disterilisasi dengan langkah eksplan dikupas bagian kulit luar umbi bawang merah yang kotor, dibakar dengan menggunakan api Bunsen, direndam dengan air bersih plus deterjen dengan konsentrasi 1 g/L selama 1 jam, dibilas hingga bersih, direndam di dalam Benlate dan Agrept masing-masing 0,1 g/100 mL selama 24 jam, lalu bilas dengan air steril 3 kali. Eksplan selanjutnya direndam di dalam larutan chlorox 30% selama 15 menit. Setelah 15 menit perendaman, bilas dengan air steril 2 - 3 kali. Umbi selanjutnya dikupas 1 lapis dan disertai pemotongan bagian atas umbi agar sterilisasi berikutnya dapat menjangkau bagian terdalam dari umbi. Setelah itu umbi kembali direndam dalam larutan Clorox 10% selama 15 menit. Kemudian umbi dibilas dengan air steril sebanyak 2-3 kali dan umbi pengupasan kembali 1-2 lapis disertai dengan pemotongan bagian atas umbi sampai diperoleh lapisan berwarna putih, lalu direndam di dalam chlorox 5 % selama 15 menit dan kemudian dibilas dengan air steril sebanyak 2-3 kali. Eksplan yang mengandung *basal plate* kemudian dicelupkan ke dalam larutan *betadine* sebelum penanaman ke dalam media.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Jumlah Tunas Daun

Pengamatan dan penghitungan jumlah tunas daun diamati setiap minggu selama empat minggu. Seluruh eksplan umbi yang sudah ditanam pada media menunjukkan pertumbuhan yang ditunjukkan dengan munculnya tunas daun dan pemanjangan daun. Grafik pertambahan jumlah tunas dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Grafik Pertambahan Jumlah Tunas Daun

Pada minggu pertama pengamatan, tunas yang muncul paling banyak berjumlah 1 tunas setiap eksplan dari 4 perlakuan dan 3 ulangan. Jumlah tunas paling banyak di minggu pertama pengamatan adalah pada perlakuan P2 (NAA 2 mg/L + BAP 2 mg/L) yaitu dengan rata-rata 0,66 tunas. Pada minggu kedua pengamatan rata-rata jumlah tunas terbanyak adalah pada perlakuan P4 (B5 + NAA 2 mg/L + BAP 2 mg/L) yaitu dengan rata-rata 2,66 tunas. Pada minggu ketiga pengamatan, jumlah tunas terbanyak adalah P3 (B5 + NAA 1 mg/L + BAP 1 mg/L) dan P4 (B5 + NAA 2 mg/L + BAP 2 mg/L) yaitu dengan rata-rata 3,33 tunas. Pada minggu keempat, jumlah tunas terbanyak adalah pada perlakuan P3 (B5 + NAA 1 mg/L + BAP 1 mg/L) yang berjumlah 5,67 tunas. Rata-rata jumlah tunas pada setiap perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengaruh NAA, BAP dan Vitamin B5 Terhadap Jumlah Tunas, Panjang Daun, Jumlah Akar, dan Panjang Akar

Perlakuan	Jumlah Tunas	Panjang Daun	Jumlah Akar	Panjang Akar
P1 (NAA 1 mg/L + BAP 1 mg/L)	4,33 a	4,59 a	0,71 a	0,71 a
P2 (NAA 2 mg/L + BAP 2 mg/L)	3,33 a	4,49 a	0,71 a	0,71 a
P3 (B5 + NAA 1 mg/L + BAP 1 mg/L)	5,67 a	5,78 a	0,80 a	0,80 a
P4 (B5 + NAA 2 mg/L + BAP 2 mg/L)	5,33 a	5,70 a	0,80 a	0,71 a

Keterangan : angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata pada uji DMRT taraf $\alpha = 5\%$.

Dilihat dari data pertambahan dan pertumbuhan tunas, perlakuan yang menunjukkan jumlah tunas terbanyak adalah eksplan yang ditanam pada media P3 (B5 + NAA 1 mg/L + BAP 1 mg/L) dengan rata-rata 5,67 tunas. Meskipun media perlakuan P3 menunjukkan jumlah tunas terbanyak, namun hasil tersebut tidak berbeda nyata dibandingkan dengan media perlakuan yang lain. Hasil penelitian ditunjukkan bahwa rata jumlah tunas daun yang terbentuk pada perlakuan P4 (B5 + NAA 2 mg/L + BAP 2 mg/L) lebih sedikit dibanding P3 (B5 + NAA 1 mg/L + BAP 1 mg/L), hasil ini didukung oleh pernyataan Harminingsih *et al.* (2007) yang menyatakan bahwa semakin meningkatnya

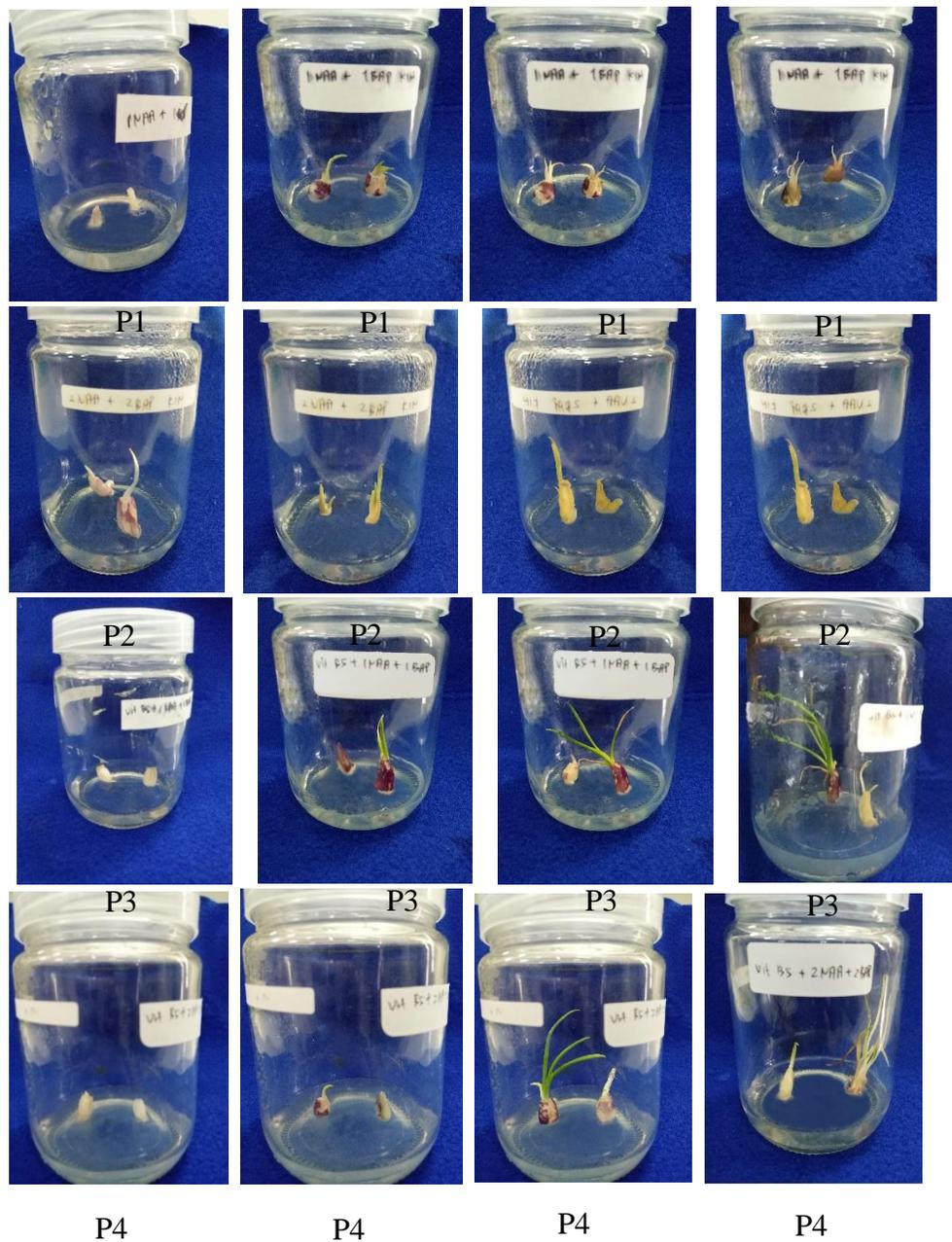
konsentrasi BAP, semakin menurun jumlah daun yang terbentuk. Hal ini disebabkan karena eksplan yang diberi BAP sebagian besar tidak memunculkan akar, sehingga tidak terjadi sintesis sitokinin di ujung akar dan tidak terjadi pengangkutan nutrisi melalui xylem ke seluruh bagian tanaman (Suhita, 2008). Penyerapan sitokinin dipengaruhi oleh keberadaan akar pada eksplan. Tanpa adanya akar akan menyebabkan terhambatnya pertumbuhan eksplan.

3.2 Panjang Daun

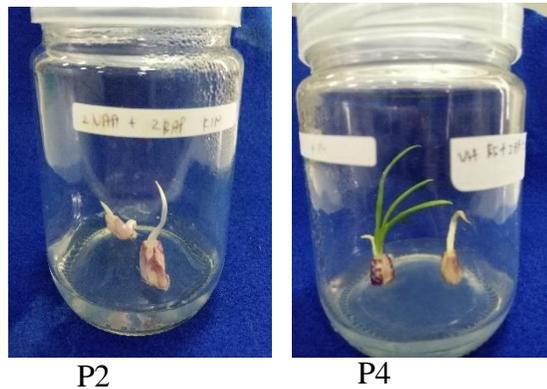
Panjang daun diukur panjangnya pada akhir pengamatan, yaitu pada minggu keempat setelah penanaman. Pengukuran panjang daun dilakukan secara destruktif, yakni mencabut keseluruhan tanaman dari media perlakuan. Dilihat dari data pertambahan dan pertumbuhan panjang daun, perlakuan yang menunjukkan panjang daun tertinggi terbanyak adalah eksplan yang ditanam pada media P3 (B5 + NAA 1 mg/L + BAP 1 mg/L) dengan rata-rata 5,78 cm (sesuai dengan data Tabel 1). Meskipun media perlakuan P3 menunjukkan jumlah tunas terbanyak, namun hasil tersebut tidak berbeda nyata dibandingkan dengan media perlakuan yang lain. Pengamatan panjang daun pada setiap minggu dapat dilihat pada Gambar 2.

Panjang daun berkaitan dengan pemberian zat pengatur tumbuh pada eksplan. Sitokinin berpengaruh pada jumlah tunas dan ukuran daun. Menurut Yelnititis *et al.* (1999) penambahan sitokinin dapat mendorong meningkatnya jumlah dan ukuran daun. Namun, hal ini tentu berkaitan dengan keberadaan akar. Selain itu, pemberian vitamin B5 yang meningkatkan kandungan organik dari media kultur *in vitro* MS juga mampu meningkatkan pertumbuhan panjang daun.

Beberapa perlakuan mengalami vitrifikasi yang dapat dilihat dari awal pertumbuhan tunas daun yang sudah mengalami *vitrous* pada minggu kedua setelah tanam. Vitrifikasi diduga disebabkan oleh kerusakan secara fisiologis pada tanaman sehingga menampilkan fenotip daun atau batang tanaman “*glassy*” (bening, seperti gelas). Vitrifikasi dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 2. Pertumbuhan dan Perkembangan Eksplan Minggu ke-1 hingga Minggu ke-4 (kiri-kanan); P1 (NAA 1 mg/L + BAP 1 mg/L), P2 (NAA 2 mg/L + BAP 2 mg/L), P3 (B5 + NAA 1 mg/L + BAP 1 mg/L), dan P4 (B5 + NAA 2 mg/L + BAP 2 mg/L)

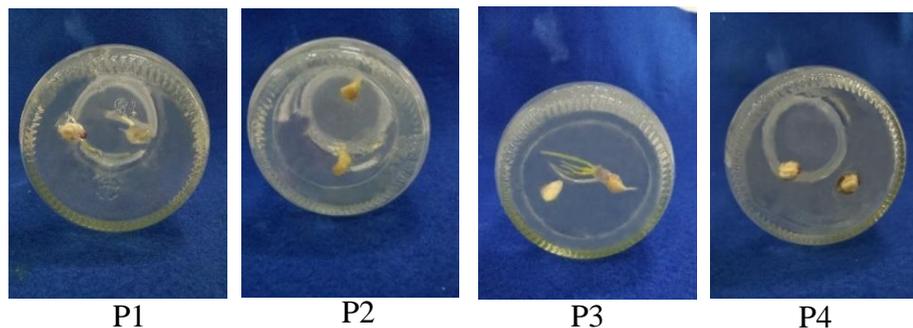


Gambar 3. Vitrifikasi pada perlakuan P2 (NAA 2 mg/L + BAP 2 mg/L) dan P4 (B5 + NAA 2 mg/L + BAP 2 mg/L)

Vitrifikasi Menurut Ziv (1991) disebabkan oleh buruknya aerasi dan tingginya kelembaban relatif pada kultur. Tanaman hasil perbanyakan secara *in vitro* seringkali menunjukkan fenotip seperti ini. Keadaan ini akan diikuti oleh nekrosis dan kematian jaringan eksplan atau tanaman (Dwiyani, 2015).

3.3 Jumlah Akar dan Panjang Akar

Dilihat dari data pertambahan dan pertumbuhan jumlah akar, perlakuan yang menunjukkan jumlah akar terbanyak adalah eksplan yang ditanam pada media P3 (B5 + NAA 1 mg/L + BAP 1 mg/L) dengan rata-rata 0,80 akar dan panjang akar tertinggi adalah pada perlakuan P3 dengan panjang 0,80 cm (sesuai dengan data Tabel 4.1). Pertumbuhan akar hanya terjadi pada perlakuan P3 diduga terjadi karena terjadinya interaksi yang baik antara auksin dan sitokinin sehingga dapat memacu pertumbuhan akar. Pengakaran pada eksplan dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Pengakaran Eksplan Minggu Keempat (kiri-kanan); P1 (NAA 1 mg/L + BAP 1 mg/L), P2 (NAA 2 mg/L + BAP 2 mg/L), P3 (B5 + NAA 1 mg/L + BAP 1 mg/L), dan P4 (B5 + NAA 2 mg/L + BAP 2 mg/L)

Menurut Pierik (1987), pemberian auksin pada konsentrasi tertentu baik diberikan sendiri maupun dalam bentuk kombinasi dengan sitokinin dapat merangsang pembentukan akar dari jaringan tanaman, hal ini terjadi karena peningkatan permeabilitas masuknya air dalam sel.

Peningkatan konsentrasi NAA secara terus-menerus tidak akan mempengaruhi panjang akar terpanjang setelah mencapai konsentrasi optimal (pada N₂), hal ini dikarenakan kebutuhan NAA sudah tercukupi baik secara endogen maupun eksogen (Pamungkas, 2015). George *et al.* (1984) menyatakan untuk pembentukan akar pada stek *in vitro* sitokinin tidak dibutuhkan atau sitokinin dibutuhkan dalam konsentrasi rendah.

4. Kesimpulan dan Saran

4.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan bahwa pertumbuhan tanaman bawang merah (*Allium ascalonicum* L.) yang paling baik adalah perlakuan P3 (B5 + NAA 1 mg/L + BAP 1 mg/L). Jumlah tunas dan jumlah akar terbanyak serta panjang daun dan panjang akar ditunjukkan pada perlakuan P3 meskipun dari setiap perlakuan tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Perlakuan dengan penambahan kombinasi NAA dan BAP pada media perlakuan P3 (B5 + NAA 1 mg/L + BAP 1 mg/L) dapat menyebabkan pertumbuhan eksplan lebih baik.

4.2 Saran

Penggunaan kombinasi NAA, BAP, dan vitamin B5 dalam organogenesis umbi bawang merah (*Allium ascalonicum* L.) perlu diteliti lebih lanjut dengan menggunakan kombinasi perlakuan yang lebih banyak agar dapat dilihat pengaruh yang berbeda nyata antar perlakuan serta waktu optimal untuk pertumbuhan dan perkembangan umbi bawang merah secara *in vitro*.

Daftar Pustaka

- Dwiyani, Rindang. 2015. Kultur Jaringan Tanaman. Denpasar. Pelawa Sari 'Percetakan & Penerbit'.
- George, E.F. and P.D. Sherrington. 1984. Plant Propagation by Tissue Culture. Handbook and Dictionary of Commercial Laboratories. Exegetic Ltd. England
- Gunawan, L. W., 1992. Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan. Pusat Antar Universitas Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor.
- Harminingsih, I. 2007. Pengaruh Konsentrasi BAP Terhadap Multiplikasi Tunas Anthurium (*Anthurium andraeanum* Linden) Pada Beberapa Media Dasar Secara *In Vitro*. Skripsi. S1 Fakultas Pertanian UNS.
- Pamungkas, S. 2015. Pengaruh Konsentrasi Naa Dan Bap Terhadap Pertumbuhan Tunas Eksplan Tanaman Pisang Cavendish (*Musa paradisiaca* L.) Melalui Kultur In Vitro. Yogyakarta. Gontor Agrotech Science Journal.

- Pierik, R. L. M. 1987. In Vitro Culture of Higher Plants. Martinus Nijhoff Publ. Boston. 344 p.
- Rukmana, R. 1994. Bawang Merah. Yogyakarta: Penerbit Kanisius
- Suhita. 2008. Pengaruh Konsentrasi Bap Dan Macam Media Terhadap Pertumbuhan Awal *Anthurium hookeri*. Skripsi. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Sumarni, N., E. Sumiati, dan Suwandi. 2005. Pengaruh kerapatan tanaman dan aplikasi zat pengatur tumbuh terhadap produksi umbi bibit bawang merah asal biji kultivar bima. Jurnal Hortikultura. 15(3): 208-214.
- Yelnititis, N., Bermawie, dan Syafaruddin. 1999. Perbanyak klon Lada Varietas Panniyur secara In Vitro. Jurnal penelitian Tanaman Industri. 5 (3) : 109-114.