

**Uji Metode Sterilisasi dan Induksi Kalus pada Tanaman Bawang Merah**

**Lembah Palu (*Allium cepa* L. var. *Aggregatum*) Secara In Vitro**

**KAMSINAR NASIR**

**G011181457**



**DEPARTEMEN BUDIDAYA PERTANIAN**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI**

**FAKULTAS PERTANIAN**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2023**

**SKRIPSI**

**Uji Metode Sterilisasi dan Induksi Kalus Pada Tanaman Bawang Merah  
Lembah Palu (*Allium cepa* L. var. *Aggregatum*) Secara In Vitro**

**Disusun dan diajukan oleh**

**KAMSINAR NASIR**

**G011181457**



**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI  
DEPARTEMEN BUDIDAYA PERTANIAN  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2023**

**Uji Metode Sterilisasi dan Induksi Kalus pada Tanaman Bawang Merah**

**Lembah Palu (*Allium cepa* L. var. *Aggregatum*) Secara *In Vitro***

**KAMSINAR NASIR**

**G011181457**

**Skripsi Sarjana Lengkap**

**Disusun sebagai Salah Satu Syarat untuk**

**Memperoleh Gelar Sarjana**

**pada**

**Departemen Budidaya Pertanian**

**Fakultas Pertanian**

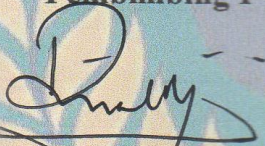
**Universitas Hasanuddin**

**Makassar**

**Makassar, 22 Agustus 2023**

**Menyetujui:**

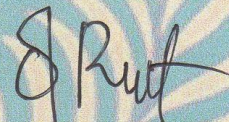
**Pembimbing I**



**Prof. Ir. Rinaldi Sjahril, M.Agr., Ph.D.**

**NIP. 19660925 199412 1 001**

**Pembimbing II**

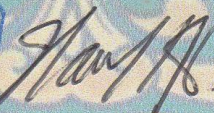
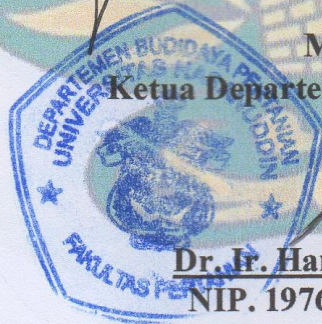


**Dr. Ir. Syatrianty A. Syaifal, M.S.**

**NIP. 19620324 198702 2 001**

**Mengetahui,**

**Ketua Departemen Budidaya Pertanian**



**Dr. Ir. Hari Iswoyo, S.P., M.A.**

**NIP. 19760508 200501 1 003**

## LEMBAR PENGESAHAN

**Uji Metode Sterilisasi dan Induksi Kalus pada Tanaman Bawang Merah**

**Lembah Palu (*Allium cepa* L. var. *Aggregatum*) Secara *In Vitro***

**Disusun dan Diajukan oleh**

**KAMSINAR NASIR**

**G011181457**

Telah dipertahankan dihadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Masa Studi Program Sarjana, Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin pada tanggal 21 Agustus 2023 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan.

**Menyetujui**

**Pembimbing I**

**Pembimbing II**

**Prof. Ir. Rinaldi Sahril, M.Agr., Ph.D.**

**NIP. 19660925 199412 1 001**

**Dr. Ir. Syatrianty A. Syaiful, MS.**

**NIP. 19620324 198702 2 001**

**Mengetahui  
Ketua Program Studi**

**Dr. Ir. Abd Haris Bahrun, M.Si.**

**NIP. 19670811 19943 1 003**

## PERNYATAAN KEASLIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Kamsinar Nasir

NIM : G011181457

Program Studi : Agroteknologi

Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa tulisan saya yang berjudul "Uji Metode Sterilisasi dan Induksi Kalus pada Tanaman Bawang Merah Lembah Palu (*Allium cepa* L. var. *Aggregatum*) Secara In Vitro" adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain. skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini hasil karya dari orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 22 Agustus 2023

Yang menyatakan



Kamsinar Nasir

## ABSTRAK

**KAMSINAR NASIR (G011181457)**, Uji Metode Sterilisasi dan Induksi Kalus pada Tanaman Bawang Merah Lembah Palu (*Allium cepa* L. var. *Aggregatum*) Secara In Vitro. Dibimbing oleh **RINALDI SJAHRIL** dan **SYATRIANTY A. SYAIFUL**

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari metode sterilisasi dan pengaruh 2,4-*Dichlorophenoxyacetic acid* (2,4-D) dalam menginduksi kalus bawang merah Lembah Palu. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biosains dan Bioteknologi Reproduksi Tanaman, Departemen Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian/Unit Perbenihan Tanaman Teaching Industry, Makassar, pada bulan November 2022 sampai April 2023. Penelitian ini terdiri dari dua tahap, yaitu percobaan sterilisasi dan percobaan induksi kalus 2,4-D. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 5 taraf perlakuan konsentrasi 2,4-D, yaitu tanpa pemberian senyawa 2,4-D (kontrol), 0,25 mg L<sup>-1</sup>, 0,5 mg L<sup>-1</sup>, 0,75 mg L<sup>-1</sup> dan 1,0 mg L<sup>-1</sup> dengan 3 kali ulangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan sterilisasi kontaminasi yang paling rendah adalah penggunaan fungisida Benlox® 1,5 g L<sup>-1</sup> selama 12 jam (di luar LAFC) dan Bayclin® 100% (di dalam LAFC) yaitu 33,33% dengan persentase kematian eksplan sebanyak 37,50%. Selain itu, hasil penelitian juga menunjukkan bahwa penggunaan 2,4-D dapat menginduksi pembentukan kalus. Konsentrasi terbaik untuk persentase pembentukan kalus adalah 0,75 mg L<sup>-1</sup> (66,67%) dan untuk kecepatan pembentukan kalus adalah 1,0 mg L<sup>-1</sup> (3,04 HST). Rata-rata berat kalus terbaik adalah pada pemberian 0,75 mg L<sup>-1</sup> 2,4-D, namun setelah 7 MSK berat kalus terus mengalami penurunan seiring dengan bertambahnya umur kalus. Warna kalus yang dominan dihasilkan dalam penelitian ini terdiri atas *Greyed-Yellow Group*, *Greyed-Orange Group* dan *White Group* dengan tekstur kompak.

**Kata kunci:** 2,4-D, Bawang Merah, Embriogenesis somatik, Kalus, Lembah Palu

## **KATA PENGANTAR**

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Skripsi ini penulis susun untuk menyelesaikan pendidikan sarjana di Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin. Banyak tantangan yang dihadapi penulis selama penyusunan skripsi ini. Namun, semua bisa terlewati berkat dorongan dan bantuan dari semua pihak yang telah membantu dalam setiap proses penyusunan skripsi ini. Atas perhatian dari semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyusun skripsi ini, dengan rasa hormat yang mendalam penulis ucapkan terima kasih kepada:

1. Keluarga terkhusus kepada kedua Orang Tua, M. Nasir dan Nursiah, dan adik penulis, M. Ramdan, yang dengan penuh kasih sayang telah memberikan dukungan dan semangat kepada penulis selama menempuh pendidikan, penelitian hingga penyusunan skripsi, baik dalam bentuk doa, motivasi maupun materi sehingga penulis bisa menyelesaikan skripsi ini.
2. Prof. Ir. Rinaldi Sjahril, M.Agr., Ph.D. dan Dr. Ir. Syatrianty A. Syaiful, MS., selaku dosen pembimbing yang senantiasa membimbing, mendampingi serta memberikan arahan, motivasi dan masukan selama pelaksanaan penelitian dan penyusunan skripsi ini.
3. Prof. Dr. Ir. Nasaruddin, M., Si., Dr. Ir. Feranita Haring, MP. dan Dr. Ir. Katriani Mantja, MP., selaku dosen penguji yang senantiasa memberikan masukan- masukan yang kritis dalam menyempurnakan skripsi ini.

4. Kakak-kakak dalam Rinaldi's crew: Kasmiati Sande, S.P., M.Si., Novitasari, S.P., M.Si., Khusnul Khatima, S.P. dan Wulan Sjahril, S.P. yang senantiasa berusaha membantu, memberikan saran, kritikan dan motivasi selama proses penelitian hingga proses penyusunan skripsi penulis.
5. Seluruh Peneliti di Laboratorium Biosains dan Bioteknologi Reproduksi Tanaman: Fitianadewi Pasang, S.P., M.Si, Dita Dindasari, S.P., Nur Anna Nurdin, S.P., Nilam Sedayu, S.P., Gavrilla Chavvah B. S., Nun Ainun, S.P., A. Fatmawati, S.P., Febry Zulqoidah, S.P., Ramlan dan Arini Azhar, yang kebersamaai dan menyemangati penulis terutama selama proses penelitian berlangsung.
6. Partner penelitian penulis, Idarni Tenri Pada Badwi, S.P., sekaligus guru yang selalu memberikan semangat, dukungan dan senantiasa menyalurkan berbagai ilmu yang dimiliki terutama seputar kultur jaringan.
7. Laboran Laboratorium Biosains dan Bioteknologi Reproduksi Tanaman, Isriani, S.P., yang senantiasa memberikan motivasi, ilmu dan saran-saran yang membangun serta turut serta membantu penulis selama proses penelitian berlangsung.
8. Sahabat-sahabat dalam *International Elite Squad*: Nurul Qur'ani, S.P., Alfrina Pata'dungan, S.P., Riska, Sukmawati, S.P., Rahmat Hidayat Gazali, S.P. dan Frisklia Kesya Pairunan, S.P. yang senantiasa membantu, mendukung, menyemangati dan kebersamaai penulis selama berkuliah hingga pada proses penelitian yang dapat berlangsung dengan baik.



9. Kakak dan Teman-teman HIMAGRO dan H18BRIDA, yang senantiasa peduli dan memberikan semangat dan kebersamaan selama studi hingga dapat sama-sama mewujudkan salah satu cita-cita yang sama ini.
10. Kakak dan Teman-teman se-Unit Kegiatan Mahasiswa Panahan Universitas Hasanuddin, terutama Volume IV (KARNA), yang secara langsung dan tidak langsung memberikan semangat dalam banyak hal.
11. Seluruh pihak yang telah memberikan semangat dan dukungan dari awal penelitian hingga terselesaikannya penelitian yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu.

Penulis juga menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna dan masih memiliki banyak kekurangan baik dari segi penyusunan maupun dari penggunaan tata bahasa. Oleh karena itu, kritik serta saran yang membangun sangat penulis harapkan demi penyempurnaan skripsi ini kedepannya.

Akhir kata penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pihak yang membutuhkan.

Makassar, 22 Agustus 2023

Kamsinar Nasir

## DAFTAR ISI

<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xii
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Hipotesis.....	6
1.3 Tujuan dan Kegunaan .....	6
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	9
2.1 Tanaman Bawang Merah Lembah Palu .....	9
2.2 Kultur Jaringan.....	10
2.3 Embriogenesis Somatik.....	13
2.4 Zat Pengatur Tumbuh.....	14
2.5 Senyawa 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid .....	16
2.6 Penelitian- penelitian tentang Kultur Jaringan Bawang Merah .....	17
<b>BAB III BAHAN DAN METODE</b> .....	19
3.1 Tempat dan Waktu .....	19
3.2 Alat dan Bahan.....	19
3.3 Metode Penelitian.....	20
3.4 Tahapan Pelaksanaan Penelitian .....	21
3.5 Parameter Pengamatan .....	23
3.6 Analisis Data .....	25
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	27
4.1 Hasil .....	27
4.2 Pembahasan.....	32
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	42
5.1 Kesimpulan .....	42
5.2 Saran.....	42
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	43
<b>LAMPIRAN</b> .....	48

## DAFTAR TABEL

No.	Teks	Halaman
1.	Perlakuan dalam percobaan sterilisasi .....	20
2.	Rata-rata persentase kontaminasi eksplan (%).....	27
3.	Persentase pembentukan kalus (%).....	28
4.	Rata-rata waktu muncul kalus (HSK).....	29
5.	Rata-rata berat kalus (g) .....	30
6.	Tekstur dan warna kalus pada berbagai konsentrasi 2,4-D .....	31

## Lampiran

1a.	Persentase pembentukan kalus (%) .....	49
1b.	Sidik ragam persentase pembentukan kalus.....	49
2a.	Waktu muncul kalus (HSK) .....	50
2b.	Sidik ragam waktu muncul kalus .....	50
2c.	Sidik ragam waktu muncul kalus (transformasi $\sqrt{(X+5)}$ ).....	50
3.	Persentase warna kalus pada media MS dan berbagai konsentrasi 2,4-D .....	51
4a.	Berat kalus (g) 7 MSK.....	52
4b.	Sidik ragam Berat kalus 7 MSK.....	52
4c.	Berat kalus (g) 13 MSK.....	52
4d.	Sidik ragam Berat kalus 13 MSK.....	53
4e.	Berat kalus (g) 20 MSK.....	53
4f.	Sidik ragam Berat kalus 20 MSK .....	53
5.	Formulasi media Murashige and Skoog (MS) dalam 1 liter media.....	54
6.	Deskripsi varietas tanaman Bawang Merah Lembah Palu.....	55

## DAFTAR GAMBAR

No.	Teks	Halaman
1.	Eksplan Bawang Merah Lembah Palu .....	23
2.	Analisis regresi persentase pembentukan kalus .....	28
3.	Analisis regresi rata-rata waktu muncul kalus .....	29
4.	Eksplan umbi.....	32
5.	Kalus yang terbentuk dari pemanjangan tunas pada eksplan.....	32

## Lampiran

1.	Denah Penelitian RAL .....	56
2.	Eksplan umbi .....	57
3.	Pembentukan kalus dan pembengkakan pada eksplan (4-10 HSK).....	58
4.	Perkembangan kalus pada eksplan .....	58
5.	Pengamatan sel pada mikroskop dengan perbesaran 4x .....	59
6.	Pengamatan sel pada mikroskop dengan perbesaran 10x .....	59
7.	Kalus yang terbentuk dari tunas eskplan yang tumbuh.....	60

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Bawang merah merupakan salah satu komoditas pertanian yang penting dan strategis (Hermanto *et al.*, 2017). Bawang merah mempunyai nilai ekonomi yang tinggi karena kebutuhan dan pemanfaatannya yang banyak sebagai bumbu masakan, obat tradisional dan bahan baku industri makanan (Sorensen *et al.*, 2015). Bawang merah yang ditanam di Indonesia cukup beragam dan telah menyebar ke beberapa daerah dan beberapa jenis memiliki ciri spesifik yang khas sebagai varietas lokal. Salah satu varietas lokal bawang merah yang cukup unik adalah bawang merah Lembah Palu yang merupakan komoditas unggul lokal dari Provinsi Sulawesi Tengah (Anonim, 2010).

Tanaman bawang merah Lembah Palu dengan nama latin *Allium cepa* L. var. *Aggregatum* dikembangkan di Lembah Palu dan ditetapkan sebagai varietas unggul nasional pada tahun 2011 (Pasigai *et al.*, 2016). Bawang merah Lembah Palu memiliki tekstur padat, rasa dan aroma kuat yang khas. Selain itu, bawang merah Lembah Palu memiliki kualitas baik untuk penyimpanan lama yang menjadikannya bahan baku industri untuk bawang goreng (Ansar, Wahyudi dan Bahrudin, 2016). Industri ini cukup potensial untuk dikembangkan, karena mampu meningkatkan daya guna tanaman, pendapatan rumah tangga dan penyerapan tenaga kerja (Sari *et al.*, 2020).

Berdasarkan data oleh BPS Sulawesi Tengah, total luas areal panen untuk tanaman bawang merah di Kabupaten Sigi (kawasan pengembangan bawang merah

Lembah Palu) pada tahun 2021 adalah 89,25 ha dengan produksi 2.284,28 kuintal atau setara dengan 2,56 ton ha<sup>-1</sup> (BPS, 2022), sehingga setidaknya dibutuhkan 7 ton bibit untuk pertanaman bawang merah yang optimal per tahunnya (berdasarkan luas lahan, produktivitas dan jarak tanam bawang merah Lembah Palu 15 x 15 cm). Hal tersebut berarti bahwa tingkat produktivitas yang dihasilkan jauh lebih kecil dari kebutuhan bibit tanaman yang dibutuhkan. Menurut Passigai *et al.* (2016), bawang merah Lembah Palu memiliki tingkat produktivitas yang masih rendah disbanding dengan potensi hasil yaitu 9,7 ton ha<sup>-1</sup>, dan lebih rendah dari jenis bawang merah lainnya.

Beberapa faktor dapat mempengaruhi produktivitas bawang merah Lembah Palu yaitu kondisi lingkungan, sistem budidaya dan pasca panen yang diterapkan, serta ketersediaan benih bermutu yang belum sesuai. Selain itu, menurut Maemunah *et al.* (2019), penurunan produksi Bawang Merah Lembah Palu salah satunya diakibatkan kurangnya ketersediaan benih bermutu serta teknologi produksi yang masih terbatas. Hal ini juga dimungkinkan karena perbanyakan bawang ini hanya dapat dilakukan secara vegetatif.

Bawang merah Lembah Palu tidak menghasilkan bunga ataupun biji sehingga perbanyakan dilakukan secara vegetatif dengan umbi. Melalui perbanyakan secara vegetatif, seluruh karakter yang ada induk akan diwariskan kepada keturunannya, sehingga potensi pohon induk yang baik akan berdampak baik pada tanaman (Duaja *et al.*, 2020). Namun, perbanyakan melalui umbi secara terus-menerus akan berdampak pada penurunan produktivitas tanaman dan kualitas umbi (deregenerasi)

(Handayani, 2021), juga adanya potensi kerusakan dan musnahnya tanaman secara keseluruhan akibat infeksi penyakit.

Dengan metode perbanyakan vegetatif yang terus-menerus, maka besar kemungkinan kebutuhan bibit dimasa mendatang tidak akan tercukupi. Selain itu, adanya potensi tergantikannya dengan spesies bawang merah lainnya atau bahkan punahnya tanaman bawang merah Lembah Palu. Menurut Widoretno (2019), pemeliharaan variasi genetik harus dilakukan untuk melindungi dan mengatasi dampak negative perbanyakan vegetatif tanaman. Berdasarkan hal tersebut, maka penerapan teknologi perbanyakan kultur jaringan cocok untuk mendukung pengembangan, pemeliharaan dan pemuliaan tanaman bawang merah Lembah Palu.

Kultur jaringan adalah teknik untuk menumbuhkan sel, jaringan ataupun irisan organ tanaman pada lingkungan aseptik untuk menjadi tanaman secara utuh pada suatu media buatan yang mengandung nutrisi (Dwiyani, 2015). Melalui teknik ini, dapat diperoleh bibit tanaman dalam jumlah besar tapi dalam waktu yang lebih singkat dan tanpa memerlukan tempat luas dibandingkan dengan perbanyakan konvensional, kesehatan dan mutu benih juga terjamin (Asriani, 2019). Selain itu, kultur jaringan memungkinkan pengembangan tanaman skala industri, perbaikan tanaman termasuk penyerapan metode transformasi genetik dengan memanfaatkan sedikit jaringan tanaman (Lestari *et al.*, 2019).

Tahapan pelaksanaan kultur jaringan terdiri atas enam tahap yaitu pembuatan media, inisiasi, sterilisasi, multiplikasi, pengakaran dan aklimatisasi (Basri, 2016). Menurut Silalahi (2015), tahapan sterilisasi merupakan tahapan yang sangat kritis

dalam memastikan alat dan bahan dalam keadaan steril. Bahan sterilan yang dapat digunakan dapat berupa chlorox (NaOCl), kaporit, perak nitrat ( $\text{AgNO}_3$ ), antibiotik,  $\text{H}_2\text{O}_2$ , alkohol 70%, betadin dan  $\text{HgCl}_2$ . Selain jenis eksplan, penggunaan bahan sterilan memerlukan penyesuaian terhadap konsentrasi dan waktu perendaman (Prasetyorini, 2019). Haeriyah (2014) dalam penelitiannya menggunakan sterilisasi umbi bawang merah dengan larutan detergen selama  $\pm 10$  menit. Sterilisasi dilanjutkan dengan sterilisasi bakar dengan alkohol 96% dan mengupas beberapa lapisan umbi. Selain itu, Armila *et al.* (2014), mengemukakan bahwa penggunaan deterjen  $1 \text{ g L}^{-1}$ , fungsida dan bakterisida  $1 \text{ g L}^{-1}$  (24 jam) yang disertai dengan clorox 10% (10 menit) dan Clorox 5% (5 menit) dengan pembakaran eksplan bawang merah (*Allium ascalonicum* L.) memberikan pengaruh terbaik dalam menekan tingkat kontaminasi.

Selain tahapan umum kultur jaringan, jalur regenerasi juga perlu diperhatikan. Planlet kultur jaringan yang diperoleh mengalami regenerasi melalui proses morfogenesis melalui jalur organogenesis atau embryogenesis somatik. Keduanya jalur tersebut dapat terjadi baik secara langsung membentuk tunas maupun melalui fase kalus. Embriogenesis somatik umumnya terjadi secara tidak langsung melalui fase kalus, yaitu dari sel-sel somatik jaringan eksplan (Dwiyani, 2015). Proses embriogenesis somatik *in vitro* berawal dari satu atau sekelompok sel tanaman, lalu sel-sel menjadi embrogenik, menjadi embrio dan berkecambah menjadi tanaman utuh. Proses ini dapat dimanfaatkan sebagai sarana untuk memperbanyak klonal dan pemuliaan untuk menghasilkan varietas unggul, yaitu



melalui mutasi, rekayasa genetika, dan pengeditan genom pada tahap proliferasi sel-sel embriogenik (Yusnita, 2022).

Kalus merupakan suatu kumpulan sel yang diperoleh dari sel-sel jaringan yang secara terus-menerus membelah diri. Kalus dapat dihasilkan di dalam media yang mengandung zat pengatur tumbuh auksin dan kadang-kadang sitokinin (Nurilmala, 2018). Kalus yang embriogenik memiliki ciri sel yang berukuran kecil, sitoplasma padat, inti besar, vakuola kecil-kecil dan mengandung butir pati. Selain itu, ciri fisik yang dapat diamati pada kalus yang baik adalah tekstur kalus remah berwarna putih kekuningan yang menandakan sel masih aktif membelah dan memiliki potensi untuk berproliferasi menghasilkan embrio (Rusdianto dan Indrianto, 2012; Farlisa *et al.*, 2022).

Dalam beberapa penelitian, senyawa auksin 2,4- Dichlorophenoxyacetic acid telah banyak digunakan untuk menginisiasi pembentukan kalus secara *in vitro*. Menurut Nasution dan Nasution (2022), senyawa 2,4-D dapat merangsang pembelahan dan pembesaran sel pada eskplan sehingga memacu pembentukan dan pertumbuhan kalus dan meningkatkan senyawa alami. Selain itu, 2,4-D lebih stabil karena tidak mudah mengalami kerusakan oleh cahaya maupun pemanasan selama proses sterilisasi.

Penelitian yang dilakukan oleh Armila *et al.* (2014) menunjukkan bahwa aplikasi senyawa 2,4-D pada bawang merah lokal palu (*Allium ascalonicum* L.) pada konsentrasi 1,0 – 2,5 mg L<sup>-1</sup> dapat menginduksi kalus dengan tekstur kalus kompak dan intermediat. Selain itu, Kurniawan dan Widoretno (2016), mengemukakan bahwa induksi kalus pada bawang merah dapat dilakukan dengan

memanfaatkan bagian cakram (basal stem) pada pemberian 2,4-D antara 0,5-5 mg L<sup>-1</sup>. Namun, konsentrasi 2,4-D dalam media perlu diperhatikan karena jika terlalu rendah kalus akan sukar terbentuk, sementara jika terlalu tinggi persentase pembentukan kalus akan menurun.

Berdasarkan uraian diatas, maka dilakukan penelitian terkait metode sterilisasi eksplan yang baik untuk tanaman bawang merah Lembah Palu (*Allium cepa* L. var. *aggregatum*) dan penggunaan 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid terhadap induksi kalus embriogenik tanaman tersebut secara in vitro. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan terkait prosedur dan metode perbanyakan kultur jaringan bawang merah Lembah Palu. Dengan demikian, dapat dilakukan pengembangan dan pemuliaan pada tanaman tersebut.

## **1.2 Hipotesis**

Hipotesis dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Terdapat metode sterilisasi yang baik dalam menekan kontaminasi eksplan tanaman bawang merah Lembah Palu (*Allium cepa* L. var. *aggregatum*).
2. Terdapat konsentrasi 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid yang tepat dalam menginduksi kalus tanaman bawang merah Lembah Palu (*Allium cepa* L. var. *aggregatum*) dalam kondisi yang embriogenik.

## **1.3 Tujuan dan Kegunaan**

Tujuan Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari metode sterilisasi dan pengaruh 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) dalam induksi kalus embriogenesis somatik tanaman bawang merah Lembah Palu.

Penelitian ini diharapkan dapat berguna untuk mengetahui metode dan prosedur kultur jaringan tanaman bawang merah Lembah Palu secara embriogenesis somatik melalui fase pembentukan kalus untuk mendukung pengembangan dan pemuliaan tanaman bawang merah Lembah Palu.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Tanaman Bawang Merah Lembah Palu**

Bawang merah lokal Palu (*Allium cepa* L. var. *Aggregatum*) merupakan salah satu komoditas hortikultura yang mempunyai kandungan gizi dan senyawa yang tergolong zat non gizi serta enzim yang berfungsi untuk terapi, meningkatkan dan mempertahankan kesehatan tubuh serta memiliki aroma khas yang digunakan untuk penyedap masakan dan bahan baku utama industri bawang goreng. Komoditas bawang merah unggul lokal ini telah cukup dikenal sebagai sumber bahan baku bawang goreng dan dikenal sangat khas dibandingkan dengan bawang lain yang ada di tanah air. Jenis bawang merah lokal Palu saat ini banyak diusahakan di Lembah Palu (wilayah Kota Palu serta sebagian wilayah Kab. Sigi dan Donggala) (Pasigai *et al.*, 2016).

Berdasarkan Keputusan Menteri Pertanian tentang pelepasan bawang merah Lembah Palu, jenis bawang ini merupakan varietas unggul dengan ciri morfologi diantaranya memiliki tinggi tanaman berkisar 36 – 37 cm dengan bentuk daun silindris berlubang (panjang 25 – 30 cm, diameter 0,5 – 0,6 cm) berwarna hijau, dapat menghasilkan 5 – 8 helai daun per umbi dengan sebanyak 50 – 55 helai daun per rumpunnya. Selain itu, umbi bawang merah ini berwarna merah pucat berbentuk pipih agak bulat dan dapat disimpan hingga 3-4 bulan setelah panen (suhu optimal 27-30°C). Bawang merah Lembah Palu tidak menghasilkan bunga ataupun biji sehingga perbanyakannya dilakukan secara vegetatif.

Bawang merah dari varietas *aggr gatum* memiliki umbi yang lebih kecil dan banyak membentuk kelompok agregat yang berasal dari satu umbi induk. Bawang merah dikategorikan dalam kelompok *aggregatum* apabila dapat menghasilkan 200 atau lebih tunas dalam 1 kg umbi induk (kondisi iklim sesuai), yang sebagian besar tunas tersebut menghasilkan umbi baru.<sup>88</sup> Tetapi, karena kondisi bawang merah yang steril, maka penyediaan benih dilakukan dengan perbanyak umbi dan dengan pengembangan pemuliaaan tanaman (Radindran, 2016). Bawang merah varietas ini memiliki kandungan air sebanyak 88%, karbohidrat 9%, protein 1,5%, lemak 0.3% dan serat 0,7%, kalium, kalsium, besi, fosfor, niasin, sebatian alium, sebatian sulfur, pro-vitamin A, vitamin B1, dan vitamin C. Bawang merah dapat ditanam dalam berbagai iklim dan tanah tapi tidak sesuai pada kawasan terlampau panas, sejuk dan banyak hujan (Ong, 2008).

## **2.2 Kultur Jaringan**

Kultur jaringan merupakan suatu teknik untuk menumbuhkan sel, jaringan ataupun irisan organ tanaman di laboratorium untuk menjadi tanaman secara utuh pada suatu media buatan yang mengandung nutrisi yang aseptik (steril). Teori totipotensi sel (*cellular totipotency*) menyebutkan bahwa setiap sel tanaman memiliki kapasitas untuk beregenerasi membentuk tanaman secara utuh. Tanaman baru yang diperoleh dengan cara ini bersifat identik dengan induknya, dan disebut plantlet. Jumlah tanaman baru yang dihasilkan tidak hanya satu, tapi bisa puluhan hingga ratusan (dari satu bahan tanam atau eksplan) (Dwiyani, 2015).

Kultur jaringan terdiri atas pembuatan media, inisiasi, sterilisasi, multiplikasi, pengakaran dan aklimatisasi (Basri, 2016). Tahapan sterilisasi dan aklimarisasi

dianggap sebagai tahapan kritis karena mempengaruhi tingkat kontaminasi sesuai prinsip aseptik kultur jaringan dan kondisi stres planlet di lingkungan luar. Tahapan sterilisasi dilakukan dengan menggunakan zat aktif dalam menekan pertumbuhan mikroorganisme. Menurut Prasetorini (2019), penggunaan bahan sterilan tergantung pada jenis tanaman, asal tanaman dan bagian tanaman. Misalnya, bahan tanam dari tanah (tunas, rhizom atau umbi) memerlukan bahan sterilan lebih kuat, waktu lebih lama dengan sterilisasi bertahap. Penggunaan bahan sterilan dapat dilakukan secara tunggal atau kombinasi untuk lebih dari satu jenis kontaminan.

Media kultur juga menjadi salah satu hal yang perlu diperhatikan, karena sebagai *supporting system* media membantu eksplan agar tetap hidup. Formulasi dari media Murashige dan Skoog (MS) hingga kini paling banyak digunakan untuk berbagai jenis tanaman (Yusnita, 2015). Menurut Silalahi (2015), komponen media kultur jaringan terdiri atas zat organik, sumber karbon, suplemen organik, arang aktif, zat pengatur tumbuh, zat pematat dan pH. Komponen seperti temperatur, intensitas cahaya dan kelembaban ruang kultur juga perlu diatur sesuai dengan kebutuhan pertumbuhan jaringan (Mastuti, 2017).

Beberapa kendala/masalah yang dapat dijumpai dalam kultur jaringan adalah pertumbuhan yang tidak normal, pendek atau kerdil, pertumbuhan batang yang cenderung ke arah penambahan diameter dan turgescence tanaman utuh, juga kontaminasi atau gangguan yang diakibatkan oleh bakteri, jamur, virus dan sebagainya. Selain itu, pencoklatan pada planlet juga menjadi masalah dalam kultur jaringan ditandai munculnya warna coklat atau hitam yang menyebabkan tidak terjadinya pertumbuhan dan perkembangan pada eksplan (Yuliarti, 2013).

Kultur jaringan terdiri dari beberapa jenis, salah satu diantaranya adalah kultur kalus. Kalus terbentuk dari organ tanaman yang mengalami luka. Sel-sel parenkim yang letaknya disekitar luka bersifat meristematik dan dapat membentuk massa sel yang tidak terdeferensi. Sel kalus terbentuk dari sel meristem atau pun sel yang telah mengalami diferensiasi, seperti sel parenchyma pada daun. Kalus dapat dihasilkan dari semua bagian tanaman (akar, daun muda, tunas, hipokotil, endosperm dan mesofil), tetapi organ yang berbeda akan menunjukkan kecepatan pembelahan sel yang berbeda pula (Pandiangnan dan Subarnas, 2011). Pemberian zat pengatur tumbuh auksin dapat merangsang pembentukan jaringan penutup luka pada permukaan eksplan (Aulia, Rustikawati, dan Endang, 2020).

Pembentukan kalus terjadi melalui induksi, pembelahan sel, dan diferensiasi sel. Kalus yang terbentuk pada eksplan disebabkan karena sel-sel yang kontak dengan medium menjadi meristematik dan menjadi aktif membelah seperti jaringan penutup luka sebagai respon terhadap pelukaan. Mula-mula terjadi pembentangan dinding sel dan terjadi penyerapan air sehingga sel akan membengkak selanjutnya terjadi pembelahan sel dan terbentuk kalus. Berdasarkan teksturnya, kalus dapat dibedakan menjadi kalus kompak (*non friable*), kalus intermediat, dan kalus remah (*friable*). Pembentukan tekstur kalus dipengaruhi oleh jenis tanaman yang digunakan, komposisi nutrisi media, zat pengatur tumbuh, dan kondisi lingkungan (Parno *et al.*, 2017).

Kalus dapat bervariasi dalam penampilan dan tekstur. Umumnya berwarna kuning atau putih, atau sering kali berpigmen. Adanya sekresi senyawa fenolik akan mempengaruhi warna coklat pada kalus. Dengan melakukan subkultur berulang

kali kalus dapat tumbuh pada media kultur yang tidak mengandung zat pengatur tumbuh, tetapi zat pengatur tumbuh eksogen sering direkomendasikan untuk menginduksi kalus (Dwivedi, 2004).

### **2.3 Embriogenesis Somatik**

Embriogenesis adalah proses pembentukan embrio yang dapat terjadi baik secara alami maupun *in vitro*. Embriogenesis somatik terjadi akibat adanya respons terhadap suatu sinyal yang menyebabkan sel-sel yang meresponsnya menjadi embrio somatik (sinyal PES). Namun, kategori sel yang dapat merespon pembentukan embrio somatik hanya dapat terjadi pada sel-sel yang kompeten. Sel yang kompeten adalah sel yang mempunyai kondisi fisiologis yang menyebabkannya responsif terhadap suatu sinyal (Yusnita, 2022).

Pembentukan embrio dalam embriogenesis somatik meliputi tiga tahapan yaitu dediferensiasi, induksi dan ekspresi. Tahapan dediferensiasi menghasilkan sel-sel kompeten. Induksi yaitu tahapan sel-sel somatik yang telah terdiferensiasi (*determined cell*), berproliferasi sebagai sel-sel embriogenik. Tahap ekspresi yaitu sel-sel embriogenik menunjukkan kompetensi embriogenik dan berdiferensiasi menjadi embrio somatik. Setelah induksi embriogenik selesai maka tahapan selanjutnya sama dengan pola pembentukan embrio zigotik yaitu melalui tahap globular (bentuk bulat), bentuk hati dan bentuk torpedo pada dikotil, atau globular, skutelar (transisi) dan koleoptil pada monokotil (Retno, 2017).

Embriogenesis dapat terjadi secara langsung dan tidak langsung. Pada embriogenesis tidak langsung, eksplan membentuk kalus lalu kalus menjadi embrio somatik (Budaya, Mursyanti dan Yuda, 2022). Secara *in vitro*, embriogenesis



somatik secara tidak langsung lebih banyak dilakukan. Dalam hal ini, eksplan diinduksi pada media ZPT auksin untuk membentuk kalus. Setelah itu, kalus diinduksi menjadi kalus embriogenik kemudian kalus embriogenik disubkultur pada media tanpa ZPT atau mengandung sedikit ZPT untuk merangsang pembentukan embrio. Embrio tersebut dikulturkan untuk menjadi tanaman utuh (Yusnita, 2022). Menurut Farlisa *et al.* (2022), diantara zat auksin sintesis, 2,4-D adalah induser embrio somatik paling efektif di banyak tanaman. Hal ini diduga karena 2,4-D memicu respon auksin dan stres secara bersamaan.

Dalam pemuliaan modern, embriogenesis somatik sangat penting untuk meregenerasikan satu sel tanaman yang sudah dimanipulasi baik dengan transformasi maupun mutasi menjadi tanaman lengkap, sehingga sel tanaman tersebut dapat diregenerasikan menjadi tanaman lengkap (Kosmiatin *et al.*, 2014). Selain itu, metode ini menguntungkan untuk pengembangan dalam perbanyakan genetik seragam, tanaman bebas virus, transformasi genetik, regenerasi sel tunggal (protoplas), serta sebagai bahan pada teknologi benih sintetis (Devy dan Hardiyanto, 2015). Penerapan embriogenesis somatik juga dapat digunakan untuk memahami proses dan mekanisme histologi, serta kaitannya dengan morfofisiologis dan molekuler sel (Loyola-Vargas dan Ochoa-Alejo, 2016).

#### **2.4 Zat Pengatur Tumbuh**

Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) dapat dihasilkan secara alami oleh tumbuhan (endogen) juga dari organisme non-tumbuhan atau sintetis yang dibuat oleh bantuan

manusia (eksogen) (Pujiasmanto, 2020). Formulasi dari jenis serta konsentrasi zat pengatur tumbuh akan menentukan arah perkembangan jaringan dan stimulus untuk regenerasi pada eksplan yang dikulturkan (Yusnita, 2015). Menurut Asra, Samarlina dan Silalahi (2020), ZPT terdiri atas senyawa organik non-nutrisi pada tumbuhan yang aktif berkerja dalam merangsang, menghambat atau mengubah pertumbuhan dan perkembangan dari suatu tumbuhan pada konsentrasi yang rendah. Pertumbuhan serta perkembangan tersebut bisa berpengaruh secara kualitatif maupun secara kuantitatif.

Zat pengatur tumbuh tersebut mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis dalam kultur sel, jaringan dan organ. Interaksi dan perimbangan antara zat pengatur tumbuh yang diberikan dalam media yang diproduksi oleh sel secara endogen, akan mempengaruhi dan menentukan arah perkembangan dan morfogenesis suatu tanaman kultur (Nurilmala, 2018). ZPT dapat dihasilkan langsung dari tanaman (endogen) ataupun diberikan dari luar berupa sintetik (eksogen) (Asra, Samarlina dan Silalahi, 2020).

Auksin alami adalah asam indolasetat (IAA) dan asam indolbutirat (IBA). Auksin sintetik yang umum dikenal terdiri atas senyawa asam naftalenasetat (NAA), asam beta-naftoksiasetat (BNOA), asam 2,4-diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan asam 4-klorofenoksiasetat (4-CPA). Fungsi auksin adalah untuk merangsang perpanjangan sel, partenokarpi dan dominasi apikal. Auksin juga memiliki fungsi dalam mempengaruhi pertumbuhan, diferensiasi dan percabangan pada akar, pemanjangan batang, perkembangan buah, dominansi apikal dan phototropisme dan geotropisme (Asra, Samarlina dan Silalahi, 2020; Pujiasmanto, 2020).

Penyesuaian jenis ZPT yang digunakan penting untuk diselaraskan dengan jalur pertumbuhan yang diinginkan. Untuk pembentukan tunas, umumnya menggunakan sitokinin (BA atau kinetin). Untuk pembentukan akar digunakan auksin dari jenis auksin IAA, IBA, atau NAA, sementara untuk pembentukan kalus digunakan auksin 2,4-D (Lestari, 2011). Senyawa 2,4-D merupakan auksin sintetis yang paling efektif dalam produksi kultur embriogenik.

## **2.5 Senyawa 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid**

Senyawa 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid merupakan herbisida tertua yang sebelumnya dimanfaatkan sebagai senyawa pembasmi gulma (Australian Herbicide Resistance Initiative, 2016). Senyawa 2,4-D termasuk golongan auksin sintetis dengan rumus kimia ( $C_8H_6Cl_2O_3$ ). Jenis ini berpengaruh pada perkembangan sel, menaikkan tekanan osmotik, meningkatkan sintesis protein dan permeabilitas sel terhadap air yang menyebabkan penurunan tekanan dinding sel atau melunakkan dinding sel sehingga air masuk ke dalam sel yang disertai kenaikan volume sel (Kartikasari *et al.*, 2013).

Ketika 2,4-D diserap oleh tanaman maka akan terjadi peningkatan auksin. Hal tersebut kemudian menyebabkan adanya sinyal untuk menstimulasi ekspresi gen pemanjangan sel, pembelahan sel dan produksi ZPT yang diekspresikan sekaligus (sifat auksin). Dengan tingkat auksin yang sangat tinggi, tanaman distimulasi secara berlebihan untuk tumbuh. Namun, ekspresi yang berlebihan akan mempengaruhi terjadinya peningkatan produksi radikal bebas, etilen yang berlebihan dan penutupan stomata tanaman sehingga tanaman perlu meningkatkan sistem pertahanan yang memerlukan banyak energi. Jika telah melewati batas toleransi dan

sistem pertahanan tidak mampu lagi dipertahankan, tanaman akan mengalami kematian (Australian Herbicide Resistance Initiative, 2016).

Dalam menginduksi kalus, 2,4-D dapat menghasilkan kalus yang bersifat remah, putih kekuningan dan berbiomassa cukup tinggi. Konsentrasi auksin 2,4 D yang dibutuhkan untuk pertumbuhan kalus berkisar 0,5 ppm – 5,0 ppm (Azizah, 2017). Senyawa ini akan merangsang pembelahan dan pembesaran sel pada eskplan sehingga memacu pembentukan dan pertumbuhan kalus dan meningkatkan senyawa alami. Selain itu, 2,4-D tidak mudah mengalami kerusakan oleh cahaya maupun pemanasan selama proses sterilisasi sehingga sifatnya lebih stabil (Nasution dan Nasution, 2022).

## **2.6 Penelitian- penelitian tentang Kultur Jaringan Bawang Merah**

Beberapa penelitian untuk kultur jaringan pada tanaman bawang merah telah cukup banyak dilakukan. Haeriyah (2014) telah melakukan percobaan untuk menginduksi kalus pada tanaman bawang merah (*Allium ascalonicum*) dengan menggunakan senyawa auksin 2,4-D. Hasil dari penelitian tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi 2,4-D terbaik untuk menginduksi kalus pada tanaman bawang merah adalah pada konsentrasi 1,0 mg L<sup>-1</sup>.

Dalam penelitian yang telah dilakukan oleh Armila *et al.* (2014), senyawa 2,4-D dengan konsentrasi 1,0-2,5 mg L<sup>-1</sup> yang diaplikasikan pada tanaman bawang merah lokal palu (*Allium ascalonicum* L.) dapat merangsang pembentukan kalus. Kalus yang dihasilkan pada penelitian tersebut memiliki tekstur kompak dan intermediat. Selain itu, Kurniawan dan Widoretno (2016), mengemukakan bahwa aplikasi 2,4-D dengan konsentrasi 0,5-5 mg L<sup>-1</sup> pada bawang merah dengan

menggunakan bagian cakram (basal stem) dapat menginduksi pembentukan kalus pada tanaman tersebut.

Penelitian yang terkait pada bawang merah Lembah Palu secara *in vitro* juga telah dilakukan oleh Maemunah *et al.* (2019). Dalam penelitian tersebut digunakan metode kultur jaringan untuk perbanyakan mikro pada tanaman bawang merah Lembah Palu (*Allium wakegi* Araki). Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa kultur jaringan pada tanaman bawang merah Lembah Palu dapat dilakukan, dengan memanfaatkan umbi sebagai eksplan dan Murashige and Skoog sebagai media pertumbuhannya.