

Pengaruh Penambahan Auksin dan Sitokinin terhadap Pertumbuhan Tunas Bawang Putih

Karjadi, A.K., dan Buchory, A.

Balai Penelitian Tanaman Sayuran Jl. Tangkuban Parahu 517 Lembang, Bandung 40391
Naskah diterima tanggal 30 Desember 2005 dan disetujui untuk diterbitkan tanggal 27 April 2007

ABSTRAK. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Balai Penelitian Tanaman Sayuran, Lembang. Tujuan penelitian adalah mengetahui pengaruh dari penambahan auksin dan sitokinin terhadap pertumbuhan tunas bawang putih kultivar Lumbu Kuning. Perlakuan yang diuji adalah media dasar B5 yang dikombinasikan dengan picloram (0, 0.1, dan 0.2 mg/l), BAP(0, 1, dan 2 mg/l), dan 2-ip (0, 1, dan 2 mg/l). Ada 18 komposisi media perlakuan. Sebagai eksplan digunakan jaringan meristematik bawang putih. Pengamatan dilakukan secara visual terhadap pertumbuhan eksplan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa eksplan dapat tumbuh dan berkembang di semua komposisi media. Kontaminasi hanya terjadi pada beberapa kultur. Pertumbuhan eksplan yang normal ditunjukkan oleh pertumbuhan daun yang baik, lurus, dan mengarah ke atas. Tidak didapatkan perbedaan nyata pengaruh penambahan hormon picloram, 2-ip, dan BAP terhadap pertumbuhan plantlet. Namun secara umum kombinasi antara picloram dan 2-ip dapat mempercepat pertumbuhan tunas.

Katakunci: *Allium sativum*; B5; BAP; 2-ip; Picloram; Eksplan; Pertumbuhan.

ABSTRACT. Karjadi, A.K. and Buchory A. 2007. The Effect of Auxin and Cytokinin Concentration on Shoot Induction of Garlic. The experiment was conducted at tissue culture laboratory of Indonesian Vegetable Research Institute. The objectives of the experiment were to find out the influence of picloram and cytokinin (BAP, 2-ip) concentration on shoot induction of garlic cv. Lumbu Kuning. The experiment consisted of 18 media compositions, those were basal medium of B5 combined with picloram (0, 0.1, and 0.2 mg/l), BAP (0, 1, and 2 mg/l), and 2-ip (0, 1, and 2 mg/l) and the explants were from meristematic tissue/shoot tip. Results of experiment showed that explants could be proliferated in all medium composition. There were no significant differences on medium with hormone picloram, 2-ip, or BAP. However combination of hormone picloram and 2-ip in the medium could accelerate shoot growth of garlic.

Keywords: *Allium sativum*; B5; BAP; 2-ip; Picloram; Explant; Growth.

Kultur jaringan tanaman adalah suatu teknik penumbuhan bagian tanaman berupa potongan jaringan atau organ tanaman yang dipisahkan dari lingkungan alami dalam suatu media buatan secara aseptik (Ayabe dan Sumi 1998, Abo El. Nil 1977). Apabila eksplan yang berupa potongan sel, jaringan, atau organ tadi dapat beradaptasi dengan baik pada media buatan maka eksplan tersebut akan mampu mengadakan proliferasi sel dan tumbuh menjadi tanaman baru yang utuh/membentuk plantlet. Hal ini sesuai dengan teori sel Schleiden dan Schwann (1838-1939) yang menyatakan bahwa sel merupakan unit biologis terkecil yang mempunyai totipotensi atau kemampuan untuk dapat berdiferensiasi membentuk tanaman utuh.

Teori yang diajukan oleh Schleiden dan Schwann ini dapat dianggap sebagai dasar dari teknik kultur jaringan. Menurut Bhojwani (1980), teknik kultur jaringan pertama kali dikembangkan oleh Haberlandt pada tahun 1902, namun teknik ini gagal untuk memperoleh hasil dan sejak saat

itu teknik ini terus berkembang pesat. Kultur jaringan terbagi dalam 2 kelompok, yaitu kultur jaringan yang belum terorganisasi dan kultur jaringan yang sudah terorganisasi (Eady *et al.* 1998). Pembagian ini didasarkan pada bahan tanaman yang akan ditanam/dikulturkan.

Kultur jaringan yang belum terorganisasi terdiri atas kultur kalus, kultur suspensi, kultur protoplas, dan kultur polen. Sedangkan kultur jaringan yang sudah terorganisasi terdiri atas kultur meristem, kultur pucuk, kultur buku/nodus, dan kultur embrio.

Pada teknik kultur jaringan terdapat 3 cara yang dapat dilakukan untuk membentuk tanaman baru atau propagasi, yaitu (1) menginduksi bagian meristem tumbuhan agar dapat tumbuh dan berproliferasi, (2) menginduksi pucuk yang baru terbentuk menjadi bentuk yang tidak terorganisasi yaitu kalus, dan (3) melalui embriogenesis somatik.

Teknik kultur jaringan memiliki beberapa keuntungan (Gunawan 1987, Watimena 1986),

yaitu (1) eksplan/bahan tanaman yang digunakan sangat kecil sehingga tidak akan merusak tanaman donor, (2) bebas dari patogen karena perbanyakannya dilakukan secara aseptik, (3) dapat dilakukan sepanjang tahun/tidak bergantung musim, dan (4) membutuhkan ruang yang kecil untuk memproduksi dalam jumlah banyak. Namun demikian ada beberapa kekurangan dalam perbanyakannya dengan teknik ini, yaitu (1) membutuhkan keterampilan, (2) membutuhkan fasilitas dan peralatan yang khusus untuk kultur jaringan, (3) tanaman/plantlet yang dihasilkan tidak semuanya memiliki karakteristik yang sama dengan induknya, (4) untuk aklimatisasi tanaman/plantlet dibutuhkan teknik khusus agar tanaman dapat tumbuh dengan baik, dan (5) metode ini memungkinkan terjadinya aberasi genetik tanaman.

Kultur jaringan mempunyai peran yang sangat besar dalam pemuliaan tanaman, khususnya untuk tanaman bawang putih. Salah satu aplikasi kultur jaringan berupa embriogenesis somatik yang dimanfaatkan secara luas untuk penelitian yang berkaitan dengan regenerasi tumbuhan bawang (Eady *et al.* 1998) dan penelitian tentang pembentukan bulbus bawang putih secara *in vitro* (Lapita dan Patena 1992).

Dalam penelitian ini digunakan kultur pucuk tanaman bawang putih, di mana pucuk merupakan bagian dari kultur yang terorganisasi, dengan eksplan berupa organ yang sudah berdiferensiasi secara lengkap. Kultur ini sangat menguntungkan bila digunakan untuk perbanyakannya atau untuk menghasilkan benih berkualitas. Dengan perlakuan-perlakuan tertentu tunas yang tumbuh dapat berakar dan membentuk plantlet/tanaman *in vitro* dalam waktu relatif singkat.

Zat pengatur tumbuh (ZPT) adalah sejenis hormon yang terdapat pada tumbuhan yang bertanggung jawab dalam mengendalikan keseluruhan proses metabolisme dan fisiologis yang terjadi pada tanaman. Sampai saat ini terdapat 5 jenis ZPT yang dikenal secara luas, yaitu auksin, sitokinin, gibberelin, etilen, dan asam absisat.

Auksin berperan dalam pertumbuhan dan pemanjangan sel, dapat menginduksi pembelahan sel serta diferensiasi sel, membantu proses pembentukan buah, menghambat proses absisi, berperan dalam terjadinya dominansi apikal, dan

menyebabkan terbentuknya akar *adventitious* serta terhambatnya pembentukan pucuk aksiler dan *adventitious*.

Sitokinin berfungsi menstimulus sintesis protein, menginduksi sintesis dan pematangan kloroplas, menyebabkan diferensiasi pada jaringan meristem pucuk dan akar, berperan dalam pembentukan daun, dan menghambat senesens. Tingkat auksin tinggi akan menginduksi pertumbuhan akar sedangkan jika tingkat sitokinin tinggi akan menginduksi pertumbuhan pucuk. Dalam kultur jaringan pertumbuhan akar dan pucuk sangat dipengaruhi oleh aktivitas kedua hormon yang ditambahkan ke media tumbuh. Tujuan penelitian mengetahui penambahan auksin (picloram) dan sitokinin (BAP, 2-ip) terhadap pertumbuhan tunas bawang putih kultivar Lumbu Kuning.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Balai Penelitian Tanaman Sayuran di Lembang. Adapun perlakuan media untuk penanaman jaringan meristem bawang adalah media dasar B5 (Gamborg *et al.* 1968), auksin/picloram (0, 0,1, dan 0,2 mg/l), sitokinin/BAP (0, 1, dan 2 mg/l) atau 2-ip (0, 1, dan 2 mg/l). Sebagai eksplan dipergunakan jaringan meristematik/*shoot tip* bawang putih kultivar Lumbu Kuning. Rincian perlakuan komposisi media adalah sebagai berikut.

Tabel 1. Komposisi media penumbuhan jaringan meristematik (*Media composition for explant growth*)

No.	Media dasar (<i>Basal medium</i>)	BAP	2 – ip	Picloram
	mg/l.....		
1	B ₅			0
2	B ₅	0	-	0,1
3	B ₅			0,2
4	B ₅			0
5	B ₅	1	-	0,1
6	B ₅			0,2
7	B ₅			0
8	B ₅	2	-	0,1
9	B ₅			0,2
10	B ₅			0
11	B ₅	-	0	0,1
12	B ₅			0,2
13	B ₅			0
14	B ₅	-	1	0,1
15	B ₅			0,2
16	B ₅			0
17	B ₅	-	2	0,1
18	B ₅			0,2

Setiap perlakuan diulang 20 kali dan ditanam pada tabung reaksi ukuran 15 x 150 mm dengan volume media 3 ml.

Sebagai eksplan dipergunakan tunas dari bulbus bawang putih. Tunas bawang putih kultivar Lumbu Kuning dicuci dengan air bersih lalu direndam dalam khlorox 5,10, dan 15% selama 15 menit. Setelah itu direndam dalam HgCl_2 0,1% selama beberapa saat dan dibilas dengan akuades steril sebanyak 3 kali. Pindahkan tunas ke cawan petri steril yang dialasi kertas saring steril (untuk menghilangkan air yang ada pada tunas bawang).

Pengambilan jaringan meristematik dilakukan di lingkungan *steril laminar airflow cabinet*, di bawah *dissecting* mikroskop/binokuler dengan pembesaran 40 kali. Primordia daun yang menutupi jaringan meristem dibuang satu persatu menggunakan jarum atau pisau skalpel. Jaringan meristematik dipotong menggunakan jarum/pisau skalpel, sehingga diperoleh ukuran 0,5-1 mm kemudian diinokulasikan pada tabung reaksi yang berisi media. Kultur diinkubasikan di ruang kultur dengan suhu kamar 20-22°C, dan lama pencahayaan (fotoperiode) 16 jam terang 8 jam gelap.

Pengamatan dilakukan selama 3 minggu setelah inokulasi terhadap pertumbuhan dan perkembangan dari jaringan meristematik bawang putih kultivar Lumbu Kuning. Pengamatan dilakukan secara visual terhadap pertumbuhan eksplan.

Pengamatan dilakukan selama 3 minggu setelah inokulasi terhadap pertumbuhan dan perkembangan dari jaringan meristematik bawang putih kultivar Lumbu Kuning. Pengamatan dilakukan secara visual terhadap pertumbuhan eksplan. Data hasil penelitian tidak dianalisis secara statistik, tapi hanya dilakukan perhitungan persentase.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil pengamatan dapat diketahui bahwa tanaman yang tumbuh dan berkembang mencapai 100%. Kontaminasi yang disebabkan oleh tumbuhnya jamur pada media terjadi hanya pada beberapa kultur. Selain itu terdapat kasus pencoklatan yang disebabkan aktifnya

enzim-enzim oksidase tertentu, seperti polifenol oksidase, fenolase, dan tirosinase (Buítevelds *et al.* 1994, Kim dan Soh 1996). Enzim-enzim tersebut dilepaskan dan disintesis pada kondisi lingkungan yang sesuai, seperti adanya substrat dan keadaan oksidasi yang sesuai. Keadaan tersebut timbul bila jaringan dilukai seiring dengan akumulasi enzim dan senesens pada jaringan yang terluka, maka terjadi pencoklatan. Selama pengamatan terlihat beberapa kasus pencoklatan, namun hal tersebut tidak menurunkan tingkat pertumbuhan plantlet sehingga tidak mempengaruhi data secara keseluruhan. Secara umum pertumbuhan tunas tanaman bawang putih tumbuh baik pada awal pertumbuhan. Hal ini dapat dilihat dari adanya pembengkakan eksplan, penambahan panjang tunas, dan bila pertumbuhan tunas normal maka tunas akan terus tumbuh (Phillips *et al.* 1983).

Pertumbuhan eksplan yang normal berupa pertumbuhan daun yang baik, lurus, dan terus mengarah ke atas tidak bertahan lama, karena setelah 2-3 minggu dikulturkan, pertumbuhan eksplan mengalami abnormalitas berupa daun yang tumbuh menggulung dan melilit atau daun tumbuh di dalam media. Dari pengamatan visual, pertumbuhan yang abnormal ini lebih banyak diakibatkan oleh ruang tumbuh yang terlalu kecil.

Pada hari ke-14 setelah inokulasi, eksplan yang tetap tumbuh normal hanya eksplan pada perlakuan 1-9, sedangkan perlakuan lainnya mengalami abnormalitas (tumbuh menggulung). Abnormalitas pertumbuhan mencapai 50% pada perlakuan 10-18. Keabnormalan pertumbuhan hingga 100% terjadi pada perlakuan 2 dan 12. Keabnormalan mencapai 80% pada perlakuan 6, pada perlakuan 13, 14, 15, dan 16 keabnormalan mencapai 60% dan perlakuan 11 dan 17 keabnormalan hanya 20%. Setelah 20 hari, pertumbuhan abnormal mencapai 55,56% (10 perlakuan) dan dari kesepuluh perlakuan tersebut terdapat 8 perlakuan yang tingkat abnormalitasnya mencapai 100% (perlakuan media 2, 11, 12, 14, 15, 16, 17, dan 18).

Keabnormalan tersebut ditunjukkan pada Grafik 1, yaitu berupa adanya daun yang menggulung terutama pada perlakuan 11 hingga 18. Dari Grafik 1 dan 2 dapat dibandingkan pengaruh penambahan ZPT pada pertumbuhan tunas bawang putih. Pada perlakuan 1-9, sitokinin

yang digunakan adalah BAP sedangkan perlakuan 10-18 sitokinin yang digunakan 2-ip. Dari perbedaan sitokinin yang digunakan ini dapat dikatakan bahwa pertumbuhan tunas bawang putih sangat dipengaruhi oleh konsentrasi dan macam sitokinin yang digunakan. Perlakuan BAP umumnya lebih baik dibandingkan dengan perlakuan 2-ip dalam penumbuhan tunas bawang putih kultivar Lumbu Kuning.

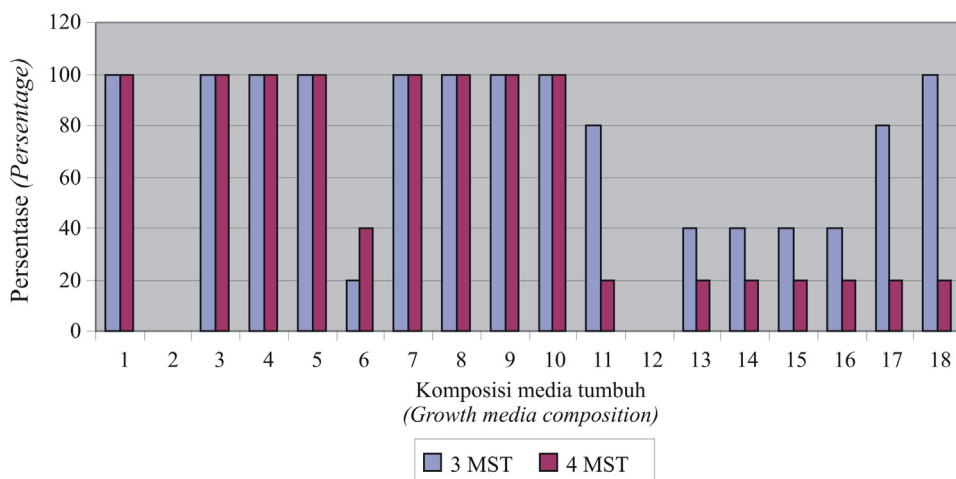
Penelitian Lapita *et al.* (1991) memperlihatkan bahwa pemberian 2-ip pada kultur akan mempercepat pertumbuhan dan pembentukan tunas. Diduga bahwa hasil yang diperoleh dari penumbuhan jaringan meristematik terjadi keabnormalan berupa menggulungnya daun pada pertumbuhan tunas bawang putih terjadi karena pertumbuhan yang terlalu cepat pada kultur dengan perlakuan 2-ip. Pada kasus tersebut pertumbuhan tunas yang cepat tidak didukung oleh tempat penumbuhan, sehingga tunas yang tumbuh cenderung menggulung. Hal ini ditunjukkan dengan hilangnya abnormalitas saat eksplan yang abnormal dipindahkan ke tabung/kultur yang lebih besar. Setelah disubkultur, daun-daun yang menggulung mulai menunjukkan pertumbuhan ke arah normal. Walaupun demikian secara umum tidak dapat ditentukan secara pasti pengaruh penambahan picloram, BAP, dan 2-ip terhadap pertumbuhan tunas bawang putih karena tidak ada

perbedaan yang cukup nyata antara pertumbuhan dengan penambahan dan tanpa penambahan ZPT, dikarenakan tunas masih dapat tumbuh pada media tanpa ZPT. Hal ini sesuai dengan pendapat Haque *et al.* 1997 dan Hansen *et al.* 1995.

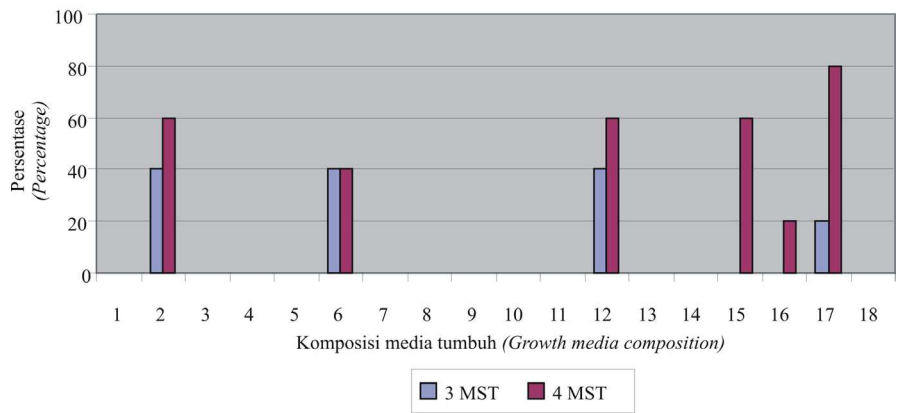
Abnormalitas ini dapat ditemui pada perlakuan 6 dan 13 (Grafik 3). Abnormalitas ini diduga karena adanya pertumbuhan cepat yang tidak didukung tempat penumbuhan yang sesuai. Setelah dilakukan subkultur, daun-daun yang mengalami abnormalitas jenis ini tidak lagi tumbuh di dalam media, melainkan tumbuh di luar media. Terdapat kekhasan yang terjadi pada daun-daun yang tumbuh dalam media.

Daun-daun yang tumbuh dalam media tidak mati namun cenderung lebih segar dan lebih hijau daripada daun normal. Hal ini menunjukkan bahwa nutrisi yang terkandung dalam media merupakan elemen sederhana yang sangat mudah diserap oleh jaringan (Hansen *et al.* 1995).

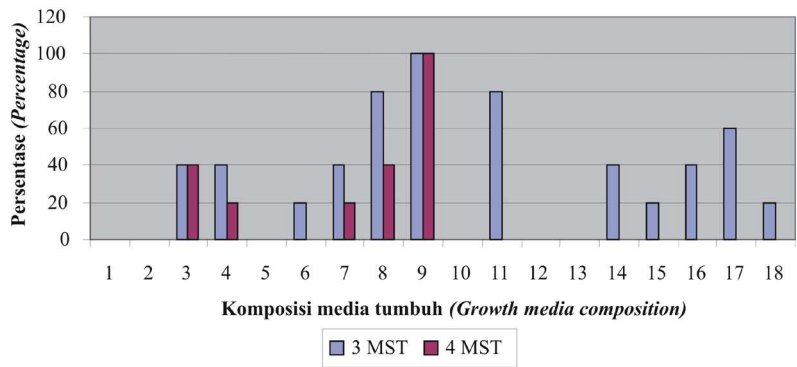
Selain keadaan abnormal yang disebutkan sebelumnya, terdapat pula abnormalitas yang berupa terjadinya pembentukan kalus. Pembentukan kalus terjadi sejak pengamatan ketiga pada perlakuan 2, 6, 12, dan 17, sedangkan pada perlakuan 15 dan 16 pembentukan kalus baru terjadi pada pengamatan keempat (Grafik 4). Pertumbuhan kalus disebabkan oleh efek penggunaan media B5.



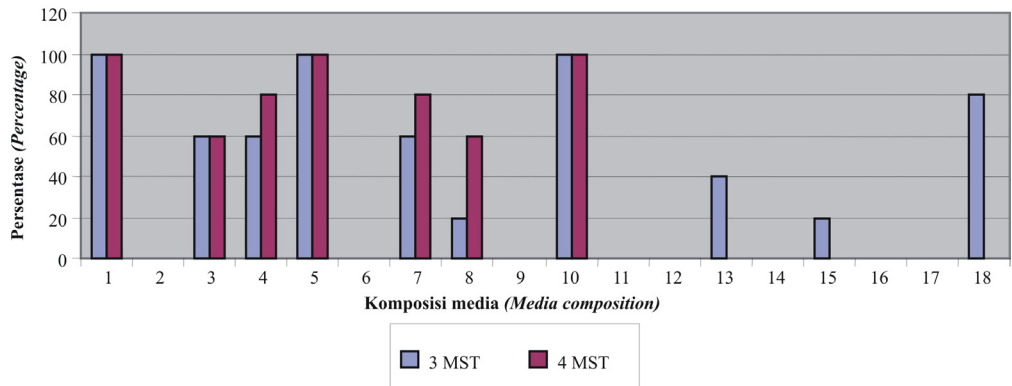
Grafik 1. Pertumbuhan daun normal bawang putih kultivar Lumbu Kuning (*Normal leaf growth on cv Lumbu Kuning garlic variety*)



Grafik 2. Pembentukan kalus dari eksplan bawang putih kultivar Lumbu Kuning (*Callus formation of Lumbu Kuning of garlic variety explant*)



Grafik 3. Plantlet membentuk daun tunggal (*Plantlet forms a single leaf*)



Grafik 4. Plantlet membentuk daun majemuk (*Plantlet with multiple leaf*)

Media B5 menurut Mohamed-Yansen *et al.* (1994), sesuai untuk penumbuhan cepat bawang putih, namun media ini juga cocok untuk penumbuhan kalus dari eksplan *Allium* sp. Kombinasi yang tepat antara auksin, sitokinin, dan media B5 akan menghasilkan kalus yang banyak dan besar (Fereol *et al.* 2002). Adanya kalus tidak mempengaruhi pertumbuhan tanaman secara signifikan. Kalus tidak terus membesar dan adanya kalus biasanya diiringi dengan menggulungnya daun, namun hal ini dapat diatasi dengan subkultur.

Pada pertumbuhan eksplan dapat ditemui plantlet yang memiliki daun tunggal (Grafik 3) dan eksplan yang memiliki daun majemuk (Grafik 4). Hasil di atas tidak sesuai dengan penelitian yang dilakukan Lapita dan Patena (1992) yang menunjukkan bahwa kombinasi antara auksin dan sitokinin pada media B5 akan menghasilkan daun majemuk antara 3 hingga 5 daun dari setiap eksplan. Hal ini dapat terjadi karena ada pengaruh kombinasi perlakuan ZPT dan media (Buitevelds *et al.* 1993).

Ternyata hanya terdapat 3 kultur yang berakar. Hal ini sesuai dengan pendapat Bhojwani (1980) bahwa penggunaan media B5 dengan penambahan 2-ip akan menyebabkan penghambatan pertumbuhan akar khususnya untuk perlakuan 10 dan 18. Pada perlakuan 1 hingga 9, tidak terjadinya pertumbuhan akar dapat disebabkan oleh ketidaksesuaian antara komposisi media dan ZPT yang digunakan. Pertumbuhan akar yang baik didukung oleh kombinasi auksin dan sitokinin dengan persentase auksin yang tinggi.

KESIMPULAN

Tidak didapatkan perbedaan yang nyata untuk membedakan pengaruh pemberian picloram, 2-ip, dan BAP terhadap pertumbuhan tunas bawang putih, namun secara umum kombinasi antara picloram dan 2-ip dapat mempercepat pertumbuhan tunas.

PUSTAKA

1. Abo El-Nil, M.M. (1977). Organogenesis and Embryogenesis in Callus Culture of Garlic (*Allium sativum* L.). *Plant Sci. Letter*. 9:259-264.
2. Ayabe, M and Sumi S. (1998). Establishment of A Novel Tissue Culture Method, Stem-disc Culture and Dits Practical Application to Micropropagation of Garlic (*Allium sativum* L.). *Plant cell Rep.* 17:773-779.
3. Bhojwani, S.S. 1980. In Vitro Propagation of Garlic by Shoot Proliferation. *Sci. Hortic.* 13:47-52.
4. Buitevelds, J, P.F. Rans, and J. Creemers -Molenaar. 1994. Induction and Characterization of Embryogenic Callus Types for the Initiation of Suspension Cultures of Leeks (*Allium ampeloprasum* L.). *Plant Sci.* 100:195-202.
5. _____, Pvd. Valk, J. Jansen, J. Creemers-Molenaar, and C.M. Colijn- Hooymans. 1993. Callus Induction and Plant Regeneration from Explant of Commercial Cultivars of Leek (*Allium ampeloprasum* var porrium L.). *Plant Cell Reports.* 12:7-8.
6. Eady, C.C., Butler, R.C., and Suo Y. 1998. Somatic Embryogenesis and Plant Regeneration from Immature Embryo Culture of Onion (*Allium cepa* L.). *Plant Cell Reports.* 18:111-116.
7. _____, and C.E. Lister. 1998. A Comparison of Four Selective Agents for Use with *Allium Cepa* L. Immature Embryos and Immatures Embryo Derived Cultures. *Plant. Cell. Reports.* 18:117-121.
8. Fereol, L., Chovelon, V., Causse, S., Michaux-Ferriere, N., and Kahane R. 2002. Evidence of Somatic Embryogenesis Process for Plant Regeneration in Garlic (*Allium sativum* L.). *Plant Cell Reports.* 21:197-203.
9. Gamborg, O. L., Miller, R.A., and Ojima, K. 1968. Nutrient Requirements of Suspension Cultures of Soybean Root Cells. *Exp. Cell Res.* 50:151-158.
10. George, E.F and Sherington. 1993. *Plant Propagation by Tissue Culture: Technology*. Part I 2 nd (ed) Exegetics Limmited, England.
11. Haque, M.S., T. Wada, and K. Hattori. 1997. High Frequency Shoot Regeneration and Plantlet Formation from Root Tip Garlic. *Plant Cell-Tissue and Organ Culture.* 50:83-89.
12. Hussey, G. 1978. In Vitro Propagation of Onion *Allium cepa* by Axillary and Adventitious Shoot Proliferation. *Scientia. Hort.* 9:227-236.
13. Hansen, E.E., J.F. Hubstenberger, and G.C. Phillips. 1995. Reperation of Shoots from Cell Suspension-derived Protoplasts of *Allium cepa*. *Plant Cell. Report.* 15:8-11.
14. Lapita, V.P.C and Patena, L.F. 1992. Bublet Formation In Vitro, A New Approach to Garlic (*Allium sativum* L) « Basic Seed » Production. *Phillippines Crop. Sci.* 17(2):89-94.
15. _____, and Rosario T. 1991. In Vitro System of Producing Shallot (*Allium ascalonicum* L) Planting Materials. *Phillip. J. Crop. Sci.* 16(3):95-101.
16. Mohamed-Yansen, Y. Splitsoesser, W.E. and Litz, R.E. 1994. In Vitro Proliferation and Production of Sets from Garlic and Shallot. *Plant Cell. Tissue Org. Culture.* 36:243-247.
17. Nagasawa, A and Finer J.J. 1988. Induction of Morphogenic Callus Cultures from Leaf Tissue of Garlic. *Hort. Sci.* 23:1068-1070.
18. Kim, J. W and W. Y. Soh. 1996. Plant Regeneration Through Somatic Embryogenesis from Suspension Cultures of *Allium fistulosum* L. *Plant Sci.* 114:215-220.

Lampiran 1. Perkembangan jaringan meristematik bawang putih (*Allium sativum* L.) varietas Lumbu Kuning (Development of meristematic of Lumbu Kuning garlic variety)

