

RESPON EMPAT VARIETAS BAWANG PUTIH (*Allium sativum* L.) LOKAL INDONESIA TERHADAP MEDIA INDUKSI DAN PROLIFERASI KALUS EMBRIOGENIK

RESPONSE OF FOUR INDONESIAN LOCAL GARLIC VARIETIES (*Allium sativum* L.) TO INDUCTION AND PROLIFERATION MEDIA OF EMBRYOGENIC CALLUS

Rumaisha Afifatul Hafizah¹, Sobir², Syarifah Iis Aisyah², Djoko Tamami³, Ika Roostika³

¹Program Studi Pemuliaan dan Bioteknologi Tanaman, Fakultas Pertanian, IPB, Darmaga, Bogor 16680

²Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, IPB, Darmaga, Bogor 16680

³Pusat Riset Hortikultura, Organisasi Riset Pertanian dan Pangan, Badan Riset dan Inovasi Nasional, KST Soekarno Jl. Raya Jakarta-Bogor km 46, Cibinong-Bogor 16911

Korespondensi: rumaisha@apps.ipb.ac.id

Diterima : 8 Juli 2024 / Direvisi : 22 Juli 2024 / Disetujui : 16 Oktober 2024

ABSTRAK

Pemantapan media regenerasi bawang putih lokal Indonesia penting dilakukan untuk berbagai tujuan, termasuk pemuliaan tanaman dan perbanyakan skala besar. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui respon *in vitro* empat varietas bawang putih lokal (Geol, Lumbu Hijau, Lumbu Kuning, dan Lumbu Putih) terhadap komposisi media induksi dan proliferasi kalus dengan menggunakan akar sebagai eksplan. Komposisi media yang diujikan meliputi media dasar MS yang mengandung pikloram (4 dan 6 mg L⁻¹), baik tanpa atau dengan penambahan glutamin (100 mg L⁻¹) dan kasein hidrolisat (3 g L⁻¹). Hasil penelitian menunjukkan respon induksi dan proliferasi kalus embriogenik bersifat *genotype dependent*, sebab tidak terdapat interaksi yang nyata antara faktor varietas dan formulasi media, namun faktor varietas berpengaruh nyata terhadap variabel amatan. Waktu inisiasi kalus tercepat diperoleh dari Lumbu Putih, yaitu kurang dari 2 minggu setelah kultur. Varietas Geol memiliki persentase pembentukan kalus dan bobot segar kalus tertinggi, berturut-turut sebesar 59% dan 0,92 g. Terdapat tiga tipe kalus yang terbentuk, yaitu (1) remah, mengkilap, putih bening, (2) remah, mengkilap, bening kekuningan, dan (3) kompak, mengkilap, kekuningan-putih susu.

Kata kunci: Geol, Glutamin, Kasein hidrolisat, Lumbu Hijau, Lumbu Kuning, Lumbu Putih, Pikloram

ABSTRACT

Establishing a regeneration media of Indonesian local garlic is necessary for several purposes, including plant breeding and large-scale propagation. This study was aimed to evaluate media formulation on callus induction and proliferation of four local garlic varieties (Geol, Lumbu Hijau, Lumbu Kuning, and Lumbu Putih) using root cuttings as the explants. MS media supplemented with different concentration of picloram (4 and 6 mg L⁻¹) without and in combination with glutamine (100 mg L⁻¹) alone and casein hydrolysate (3 g L⁻¹) were evaluated. The results showed

ISSN : [2407-7933](https://doi.org/10.15575/37229)

1

Cite this as: Hafizah, R. A., Sobir, Aisyah, S. I., Tamami, D. & Roostika, I. (2024). Respon empat varietas bawang putih (*Allium sativum* L.) lokal Indonesia terhadap media induksi dan proliferasi kalus embriogenik. *Jurnal Agro*, 11(2), 1-15. <https://doi.org/10.15575/37229>

that the responses of induction and proliferation of embryogenic callus were genotype-dependent because there was no significant interaction between varieties and media formulations. Still, the varieties had a significant interaction with the observed variables. The fastest initiation time of callus induction was obtained from Lumbu Putih, less than 2 weeks after culture. Geol showed the highest percentage of callus formation and fresh weight of callus, 59% and 0,92 g respectively. There were three different types of the callus: (1) friable, glossy, clear white, (2) friable, glossy, transparent yellow, and (3) semi compact, glossy, yellowish to milky white.

Key words: casein hydrolisate, Geol, glutamine, Lumbu Hijau, Lumbu Kuning, Lumbu Putih, picloram

PENDAHULUAN

Bawang putih (*Allium sativum* L., 2n=2x=16) merupakan salah satu tanaman subsektor hortikultura yang banyak digunakan sebagai bumbu masakan, pengobatan tradisional, hingga keperluan berbagai sektor industri (Ezeorba *et al.*, 2022). Di Indonesia, bawang putih dijadikan bumbu pada berbagai panganan dan masakan. Bawang putih lokal memiliki keunggulan dari sisi cita rasa, aroma, tekstur daging siung, dan kandungan metabolit sekunder yang tinggi, namun memiliki kekurangan pada ukuran siung yang kecil dan sulit dikupas. Hal ini menyebabkan preferensi masyarakat tertuju pada bawang putih impor, selain mudah didapatkan, harga lebih murah, ukuran siung lebih besar, warna umbi lebih cerah, dan mudah dikupas (Pusdatin, 2020; Safitri, 2021).

Bawang putih mengandung berbagai senyawa bioaktif, seperti *allicin*, *alliin*, *ajoene*, dan lainnya yang berfungsi sebagai antioksidan, antiinflamasi, antibakteri, antijamur, antikanker, antidiabetes, antiobesitas, perlindungan kardiovaskular, perlindungan sistem pencernaan, perlindungan syaraf, dan banyak fungsi lainnya (Shang *et al.*, 2019), namun potensi metabolit sekunder yang

tinggi pada bawang putih lokal belum termanfaatkan secara optimal.

Konsumsi masyarakat lokal terhadap bawang putih terus meningkat rata-rata 6,4% per tahun (Pusdatin, 2020). Peningkatan konsumsi tidak berbanding lurus dengan produksi nasional, sehingga Indonesia harus mengimpor 91,7% kebutuhan bawang putih dari luar (BPS, 2022).

Secara biologi, tanaman bawang putih lokal diperbanyak secara vegetatif dengan umbi dan bulbil (umbi tunas) yang didapatkan dari hasil panen sebelumnya. Namun, perbanyak bawang putih menggunakan umbi kurang efektif karena umbi adalah produk yang dikonsumsi dan penggunaan umbi sebagai benih akan membutuhkan jumlah yang sangat tinggi untuk per hektar lahan. Bawang putih di mancanegara, beberapa varietas dapat diperbanyak melalui biji yang dihasilkan dari bunga. Namun demikian secara fisiologis pada kebanyakan varietas bawang putih, proses pembungaan akan menghasilkan bulbil, yaitu berupa umbi berukuran kecil yang menyerupai siung terletak di antara umbi dan batang semu. Bulbil dan bunga bersaing dalam mendapatkan nutrisi yang dapat menyebabkan biji menjadi steril atau bahkan menghambat proses pembungaan (Kamenetsky & Rabinowitch, 2016; Parreño *et al.*, 2023). Selain itu, varietas impor tidak

mampu berkembang dengan optimal karena perbedaan kondisi iklim, cuaca, dan tanah di Indonesia.

Pemuliaan dan perbanyakan bawang putih secara alami atau konvensional menjadi kurang efektif, selain itu, tanaman yang diperbanyak secara vegetatif lebih rentan terhadap serangan mikroorganisme khususnya serangan virus (Krishna *et al.*, 2022), sehingga diperlukan upaya nonkonvensional untuk mendukung peningkatan kualitas dan kuantitas bawang putih lokal melalui pemuliaan tanaman. Upaya pemuliaan tanaman nonkonvensional (bioteknologi) bawang putih sudah dilakukan Robledo-Paz & Tovar-Soto (2012), misalnya melalui mutasi dengan mutagen kimia untuk melakukan penggandaan kromosom yang berimplikasi pada produktivitas metabolit sekunder *allicin* (Wen *et al.*, 2022), dan mutagen fisik dengan radiasi sinar gamma untuk meningkatkan masa simpan bawang putih pascapanen (Sharma *et al.*, 2020).

Upaya pemuliaan tanaman nonkonvensional lainnya adalah metode kultur *in vitro* atau kultur jaringan (Wattimena *et al.*, 2011). Metode kultur jaringan memerlukan penyesuaian dalam penggunaan eksplan, zat pengatur tumbuh, dan komposisi media yang tepat bergantung pada komoditas tanaman yang digunakan. Banyak studi yang dilakukan untuk meneliti komposisi media yang optimal untuk menghasilkan tanaman bawang putih yang terbaik (Robledo-Paz & Tovar-Soto, 2012). Penelitian ini bertujuan untuk menginduksi dan memproliferasi kalus embriogenik sebagai salah satu tahapan dalam proses kultur jaringan pada teknik embriogenesis somatik. Kalus embriogenik dapat digunakan sebagai bahan regenerasi, isolasi protoplas dan

sebagai inokulum untuk inisiasi kultur suspensi, yang dapat berfungsi sebagai bahan perbanyakan tanaman, menyisipkan materi genetik hingga manipulasi genetik genom tanaman, selain itu, kalus embriogenik dapat terus tersedia dalam kondisi *in vitro* melalui subkultur (Bhatia, 2015).

Salah satu tantangan dalam kultur *in vitro* pada *Allium* spp. adalah kalus sulit diinduksi, kecenderungan perbanyakan kalus yang lambat, dan pemeliharaan kalus yang *tricky*, sehingga membutuhkan beragam bahan dalam proses kultur *in vitro* dengan biaya yang cukup tinggi (Farhadi *et al.*, 2017). Penelitian ini ingin menguji penggunaan enam jenis komposisi media dalam menginduksi sekaligus memproliferasi kalus embriogenik pada empat varietas bawang putih lokal (Geol, Lumbu Hijau, Lumbu Kuning, dan Lumbu Putih) pada media MS yang diketahui memiliki kandungan natrium dan fosfor yang lebih tinggi dibanding media yang lain dan memiliki kemampuan media MS untuk meregenerasi tanaman dari jaringan dan kalus (Murashige & Skoog, 1962), melalui penambahan beberapa bahan berupa pikloram, kasein hidrolisat, dan glutamin.

Pikloram atau *4-amino-2,5,6-trichloropicolinic acid* adalah zat pengatur tumbuh (ZPT) golongan auksin, yang memiliki fungsi dalam pembentukan dan pertumbuhan kalus, sedangkan kasein hidrolisat termasuk suplemen organik kompleks yang terdiri dari 18 asam amino, vitamin, kalsium, fosfat, dan beberapa elemen mikro yang terbukti dapat membantu pembentukan kalus. Glutamin juga digunakan sebagai suplemen organik dari golongan asam amino yang umum ditambahkan dalam media sebagai sumber nitrogen yang berperan dalam

pertumbuhan sel (Bhatia, 2015). Dalam penelitian ini, media MS dengan beberapa taraf konsentrasi pikloram, tanpa dan dengan penambahan glutamin serta kasein hidrolisat diformulasikan menjadi enam jenis komposisi media untuk menginduksi dan memproliferasi kalus embriogenik.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan dari bulan Oktober 2021 hingga Desember 2022 di Laboratorium Biologi Sel dan Jaringan, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian (BB Biogen) yang saat ini telah bertransformasi menjadi Balai Besar Pengujian Standar Instrumen Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian (BB PSI Biogen). Materi tanaman yang digunakan adalah 4 varietas bawang putih lokal, yaitu Geol, Lumbu Hijau, Lumbu Kuning, dan Lumbu Putih yang berasal dari penangkar benih bawang putih di Kabupaten Temanggung, Jawa Tengah. Tahapan penelitian terdiri dari sterilisasi siung, induksi akar, induksi kalus embriogenik dari eksplan akar bawang putih, yang dilanjutkan dengan proliferasi kalus embriogenik.

Sterilisasi Siung dan Induksi Akar

Siung bawang putih dibersihkan dan dikupas kulitnya hingga disisakan 2-3 helai. Selanjutnya, siung dicuci dengan deterjen dan didesinfeksi dengan benomyl dan streptomycin masing-masing sekitar 1 g L^{-1} . Sterilisasi permukaan jaringan tanaman dilakukan menggunakan alkohol 70% selama 15 menit, natrium hipoklorit (NaOCl) 1,05% dan 1,57% selama 15 menit. Setelah itu, siung dicuci dengan akuades steril sebanyak 3 tiga kali masing-masing

selama 5 menit. Siung ditanam pada media MS (Murashige & Skoog, 1962). Inkubasi dilakukan di ruang kultur pada suhu $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ dengan fotoperiodisitas 16/8 jam (terang/gelap) dan intensitas cahaya $\pm 1000 \text{ lux}$. Setelah 45 hari masa inkubasi, akar dipanen dan digunakan sebagai eksplan. Pengambilan akar dilakukan dalam *laminar air flow cabinet (LAF)*. Akar dipotong secara melintang menjadi 2-3 bagian (dengan panjang sekitar 2 cm) dan diletakkan pada cawan petri yang dibasahi dengan akuades steril sebelum penanaman pada media perlakuan. Eksplan potongan akar tersebut ditanam pada media induksi dan proliferasi kalus embriogenik.

Induksi dan Proliferasi Kalus Embriogenik

Induksi dan proliferasi kalus embriogenik dilakukan menggunakan media MS (Murashige & Skoog, 1962) dengan penambahan ZPT golongan auksin berupa pikloram, baik dengan atau tanpa penambahan asam amino glutamin, dan senyawa organik kompleks kasein hidrolisat. Taraf pikloram yang diujikan adalah 4 dan 6 mg L^{-1} , taraf glutamin adalah 100 mg L^{-1} , sedangkan konsentrasi kasein hidrolisat sebesar 3 g L^{-1} sehingga terdapat 6 komposisi media yang diujikan (Tabel 1). Media disiapkan dalam botol 150 mL dengan volume media sebanyak 25 mL. Sterilisasi media dilakukan menggunakan otoklaf dengan suhu $121 \text{ }^\circ\text{C}$ selama 15 menit. Penanaman eksplan dilakukan dengan memasukkan 5 potongan akar ke dalam setiap botol kultur. Eksplan diinkubasi di ruang kultur pada suhu $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ dalam kondisi gelap selama 2 minggu setelah kultur (MSK). Untuk proliferasi kalus embriogenik maka dilakukan subkultur pada media yang sama dengan media induksi kalus embriogenik. Inkubasi

dilakukan pada kondisi yang sama dengan tahapan induksi kalus embriogenik dengan masa inkubasi hingga 8 MSK.

Pengamatan Percobaan

Pengamatan dilakukan setiap pekan pada eksplan yang dikulturkan, apakah terdapat kontaminasi, pencokelatan atau *browning*, dan respon pembentukan kalus. Observasi juga dilakukan terhadap waktu inisiasi kalus (saat pertama kali kalus muncul) dan jumlah eksplan yang membentuk kalus untuk memperoleh data persentase pembentukan kalus yang diperoleh dengan cara membagi jumlah eksplan yang membentuk kalus terhadap jumlah eksplan yang diuji dan hasilnya dikalikan dengan 100%. Observasi juga dilakukan melalui pengukuran diameter kalus terpanjang dan terpendek serta pengukuran tinggi kalus. Diameter kalus diukur dari luar botol kultur menggunakan mistar, satu *clump* kalus diukur diameter dari sisi terpanjang dan terpendek. Rerata diameter kalus diperoleh dengan menjumlahkan diameter terpanjang dan terpendek lalu hasilnya dibagi dua. Tinggi kalus diukur dari permukaan media dari luar botol kultur. Variabel lainnya yang diamati adalah bobot segar kalus, dengan cara mengeluarkan kalus dari botol kultur kemudian diletakkan diatas timbangan analitik. Pengukuran diameter kalus, tinggi

kalus serta bobot segar kalus dilakukan pada akhir observasi , yaitu pada 8 minggu setelah kultur (MSK). Selain variabel kuantitatif, observasi juga dilakukan secara kualitatif terhadap tipe kalus yang terbentuk, yaitu dengan skor 1 (remah, mengkilap, putih bening), skor 2 (remah, mengkilap, putih kekuningan), dan skor 3 (semi kompak, mengkilap, kekuningan-putih susu).

Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Percobaan disusun secara faktorial dalam lingkungan Rancangan Kelompok Lengkap Teracak yang terdiri dari dua faktor percobaan, yaitu varietas (A) dan komposisi media (B). Varietas terdiri atas 4 taraf, yaitu: Geol, Lumbu Hijau, Lumbu Kuning, dan Lumbu Putih, sedangkan formulasi media terdiri atas 6 komposisi media seperti yang tertera pada Tabel 1. Dengan demikian jumlah perlakuan yang diujikan adalah 24 kombinasi dengan 3 ulangan, sehingga terdapat 72 unit percobaan. Analisis statistik dilakukan dengan menggunakan analisis ragam (Anova), jika tidak terdapat interaksi yang nyata antar faktor yang diuji maka dilanjutkan dengan uji *Tukey* atas faktor-faktor tunggal yang secara Anova berbeda nyata. Analisis menggunakan *software PKBT-STAT 3.1, IBM SPSS Statistics 25*, dan *MS Excel 2019*.

Tabel 1. Komposisi media perlakuan induksi dan proliferasi kalus embriogenik eksplan akar bawang putih lokal Indonesia

Kode media	Komposisi media
P4	Pikloram 4 mg L ⁻¹
P6	Pikloram 6 mg L ⁻¹
P4G	Pikloram 4 mg L ⁻¹ + glutamin 100 mg L ⁻¹
P6G	Pikloram 6 mg L ⁻¹ + glutamin 100 mg L ⁻¹
P4GCH	Pikloram 4 mg L ⁻¹ + glutamin 100 mg L ⁻¹ + kasein hidrolisat 3 g L ⁻¹
P6GCH	Pikloram 6 mg L ⁻¹ + glutamin 100 mg L ⁻¹ + kasein hidrolisat 3 g L ⁻¹

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil sidik ragam dan respon genotipe bawang putih lokal pada peubah pengamatan kalus

Perlakuan enam komposisi media serta interaksi media dan genotipe tidak berinteraksi nyata terhadap presentase eksplan membentuk kalus, bobot segar kalus, dan waktu inisiasi kalus, namun seluruh genotipe atau varietas bawang putih lokal berinteraksi nyata terhadap peubah yang diamati berdasarkan hasil analisis ragam dengan uji *Tukey* (Tabel 2). Seluruh eksplan akar *in vitro* setelah ditanam pada media yang diujikan

menunjukkan kemampuan pembentukan kalus yang berbeda-beda. Tidak seluruh eksplan membentuk kalus, namun kalus dapat ditemukan pada setiap media dan genotipe perlakuan.

Interaksi yang nyata pada genotipe serta interaksi tidak nyata pada media dan interaksi media dan genotipe terhadap seluruh peubah, hal ini dapat terjadi karena perbedaan potensi pembentukan kalus dari eksplan, komposisi fitokimia eksplan, serta konsentrasi atau kombinasi ZPT endogen yang dimiliki setiap varietas berinteraksi dengan media, sehingga respon yang muncul beragam dari genotipe yang berbeda-beda (Ahmad *et al.*, 2021).

Tabel 2. Ringkasan hasil uji F dan nilai signifikansi pada analisis ragam

Faktor	db	Variabel		
		Presentase eksplan berkalus (%)	Bobot segar kalus (g)	Waktu inisiasi kalus (MSK)
Media	5	0,289 ^{tn}	0,126 ^{tn}	0,180 ^{tn}
Genotipe	3	0,000 ^{**}	0,000 ^{**}	0,001 ^{**}
Media*Genotipe	15	0,830 ^{tn}	0,282 ^{tn}	0,405 ^{tn}

keterangan: ** = sangat nyata pada tingkat α 1%; tn = tidak nyata pada tingkat α 5%; MSK = minggu setelah kultur

Beberapa gen terlibat dalam pembentukan kalus yang dipicu oleh suplementasi auksin. Jalur pertama, ekspresi dari beberapa gen ARF (*auxin response factor*) akan memicu ekspresi beberapa gen LBD (*lateral organ boundary domain*). Jalur kedua, dengan merepresi inhibitor CDK (*cyclin dependent kinase*). Melalui kedua jalur tersebut dengan mekanismenya masing-masing akan memicu pembentukan kalus (Bhatia, 2015).

Pembentukan kalus terlihat setelah 7 hari aplikasi perlakuan media. Pembentukan kalus tersebut terjadi pada eksplan ujung akar yang dapat diamati

berupa kemunculan massa sel lunak, tidak memiliki struktur yang jelas, dan berwarna putih hingga kuning transparan. Setiap minggu terdapat eksplan baru yang membentuk kalus dan kalus yang sudah terbentuk menunjukkan perbesaran dan perbanyakkan kalus.

Perlakuan empat genotipe bawang putih lokal seluruhnya berpengaruh terhadap presentase eksplan membentuk kalus, bobot segar kalus, dan waktu inisiasi kalus dengan kemampuan yang berbeda-beda yang ditunjukkan pada Tabel 3. Presentase pembentukan kalus menggambarkan respon organ akar bawang putih yang

mampu berdediferensiasi membentuk kalus yang bermanfaat untuk perbanyak tanaman secara *in vitro*. Satu botol kultur berisi 5 eksplan akar, pada genotipe Geol terdapat satu botol yang mampu menghasilkan kalus pada kelima akar yang dikulturkan, sedangkan pada genotipe Lumbu Hijau dan Lumbu Kuning kalogenesis paling tinggi terbentuk pada 2 dari 5 akar.

Dua genotipe yang diujikan pada media induksi dan proliferasi menunjukkan presentase kalogenesis yang lebih tinggi pada genotipe Lumbu Putih dan Geol

sebesar ± 40-60% dibandingkan genotipe Lumbu Hijau dan Lumbu Kuning yang memiliki persentase kalogenesis 20-30% (Tabel 3). Bobot segar kalus setelah 8 MSK berkisar antara 0,01-1,97 g, genotipe Geol dan Lumbu Putih menunjukkan rata-rata bobot segar kalus yang lebih berat (0,61-0,92 g) dibandingkan genotipe Lumbu Kuning dan Lumbu Hijau (0,18-0,40 g). Kalus dari empat genotipe bawang putih lokal dapat diinduksi kurang dari 2 MSK hingga < 5 MSK.

Tabel 3. Hasil uji F dan rata-rata varietas pada variabel pengamatan kalus

Varietas	Variabel		
	Persentase pembentukan kalus (%)	Bobot segar kalus pada 8 MSK (g)	Waktu inisiasi kalus (MSK)
Lumbu Putih	38,89 ^b	0,61 ^{ab}	1,89 ^a
Geol	58,89 ^a	0,92 ^a	3,94 ^b
Lumbu Hijau	20,00 ^c	0,40 ^{bc}	4,72 ^b
Lumbu Kuning	30,00 ^{bc}	0,18 ^c	3,61 ^b

Keterangan: angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji HSD taraf 5%; g = gram; MSK = minggu setelah kultur

Varietas Lumbu Hijau dan Lumbu Kuning keduanya memiliki bau dan aroma yang lebih kuat dibanding Lumbu Putih (Abiyuddin, 2024), bawang putih dengan bau dan aroma yang kuat diduga memiliki kandungan metabolit sekunder yang lebih tinggi, sehingga dapat menghalangi pembentukan kalus, beberapa media kultur tanaman dengan metabolit sekunder yang tinggi menambahkan arang aktif yang mampu mengurangi efek toksisitas dari metabolit sekunder (Thomas, 2008). Kalus Lumbu Putih juga berhasil diinduksi hingga menghasilkan tunas adventif pada media dengan suplementasi 2,4-D, kinetin, serta penambahan arginin, dan air kelapa (Wiendi *et al.*, 1996). Pada varietas lokal lainnya, yaitu Tawangmangu Baru, kalus berhasil

diinduksi hingga mencapai tahap embriogenesis somatik pada media dengan suplementasi pikloram 1,25 ppm dan kasein hidrolisat 100 mg (Handini, 2023).

Pengaruh interaksi media (MS + pikloram) dengan genotipe Geol dan Lumbu Putih menunjukkan perbedaan yang signifikan, menurut Farhadi *et al.* (2017) pengaruh signifikan antara media dan genotipe pada pembentukan kalus dan regenerasi *A. sativum* sering terjadi pada penggunaan eksplan akar. *Genotype-dependent* pada *A. ascalonicum* juga terjadi pada penelitian induksi kalus, regenerasi, dan perbanyak tunas dengan eksplan ujung akar. Perbedaan yang signifikan pada kalogenesis, bobot kalus, dan waktu inisiasi pada berbagai genotipe bawang putih lokal

menunjukkan bahwa pemilihan genotipe dan eksplan berpengaruh terhadap kesuksesan kultur *in vitro*.

Respon media kultur pada peubah pengamatan kalus bawang putih lokal

Hasil analisis dari penelitian ini menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata pada jenis formulasi media terhadap peubah pengamatan kalus seperti yang disajikan pada Tabel 4. Terlihat bahwa peningkatan konsentrasi pikloram maupun pengayaan glutamin serta kasein hidrolisat tidak berpengaruh terhadap presentase pembentukan kalus, bobot segar kalus, dan waktu inisiasi kalus (Tabel 4). Walaupun

berdasarkan media tidak terdapat perbedaan yang nyata, media P6 (pikloram 6 mg L⁻¹) menunjukkan nilai tertinggi pada presentase pembentukan kalus (43%), sedangkan media P4G (pikloram 4 mg L⁻¹ + glutamin 100 mg L⁻¹) menunjukkan bobot segar paling tinggi (0,74) dan waktu inisiasi kalus paling singkat (kurang dari 3 MSK). Terdapat perbedaan hasil pada data yang dianalisis dengan uji *Tukey* dan *Duncan*, waktu inisiasi kalus pada media P4G (pikloram 4 mg L⁻¹ + glutamin 100 mg L⁻¹) memiliki notasi berbeda yang menunjukkan waktu inisiasi paling singkat dibandingkan jenis media lainnya.

Tabel 4. Hasil uji F dan rata-rata genotipe pada variabel pengamatan kalus

Jenis Media	Peubah			
	Persentase pembentukan kalus (%)	Bobot segar kalus (g)	Waktu inisiasi kalus (MSK)	Waktu inisiasi kalus (MSK)*
P4	36,67	0,37	3,83	3,83 ^c
P6	43,33	0,58	4,17	4,17 ^{ab}
P4G	38,33	0,74	2,58	2,58 ^a
P6G	41,67	0,73	3,58	3,58 ^{ab}
P4GCH	35,00	0,42	3,75	3,75 ^{ab}
P6GCH	26,67	0,33	3,33	3,33 ^{ab}

Keterangan: angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji HSD taraf 5%; *angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT taraf 5%; MSK = Minggu Setelah Kultur; P4 = Pikloram 4 mg L⁻¹; P6 = Pikloram 6 mg L⁻¹; P4G = Pikloram 4 mg L⁻¹ + glutamin 100 mg L⁻¹; P6G = Pikloram 6 mg L⁻¹ + glutamin 100 mg L⁻¹; P4GCH = Pikloram 4 mg L⁻¹ + glutamin 100 mg L⁻¹ + kasein hidrolisat 3 g L⁻¹; P6GCH = Pikloram 6 mg L⁻¹ + glutamin 100 mg L⁻¹ + kasein hidrolisat 3 g L⁻¹

Satu pekan setelah ekspan dikultur kalus mulai terlihat pada genotipe Lumbu Putih, Lumbu Kuning, dan Geol, sedangkan kalus Lumbu Hijau mulai terlihat setelah 2 MSK. Bentuk kalus pertama kali muncul serta bentuk kalus dari masing-masing varietas dapat dilihat pada Gambar 1 dan Gambar 2. Masing-masing genotipe membentuk Inisiasi dan proliferasi (perbanyak) kalus dipengaruhi oleh beberapa hal, di

antaranya: a) sumber jaringan, b) jenis tanaman, c) usia tanaman, dan d) kondisi pertumbuhan termasuk kondisi media dan lingkungan inkubasinya (Bhatia, 2015). Jika ditilik dari poin-poin pada paragraf sebelumnya, maka beberapa hal berikut dapat dijabarkan:

- Sumber jaringan yang digunakan pada penelitian ini adalah bagian ujung akar yang dipotong menjadi beberapa bagian.

Ujung akar merupakan organ meristematik yang memiliki kemampuan untuk membentuk sel-sel baru yang mendukung pertumbuhan dan pembentukan jaringan (Stahl & Simon, 2010).

- Jenis tanaman, kalus lebih mudah diinduksi pada tanaman dikotil dibandingkan tanaman monokotil, dan pada tanaman berkayu umumnya pertumbuhan kalus lebih lambat (Bhatia, 2015). Bawang putih tergolong tanaman dikotil, namun begitu, kalus tetap dapat tumbuh dengan kondisi media yang mendukung.
- Usia tanaman, eksplan yang digunakan adalah akar primer *in vitro* dari siung yang sudah dipanen dari lapang yang umur simpannya bisa saja berbeda-beda. Selama jaringan tanaman yang diambil merupakan bagian meristematik, maka induksi kalus dapat dilakukan (Stahl & Simon, 2010).
- Kondisi media dan lingkungan, induksi dan proliferasi kalus membutuhkan: a) lingkungan aseptis, b) penyesuaian media dasar, c) ZPT, dan d) tambahan zat lain yang disesuaikan dengan kondisi dan bahan kultur yang digunakan (Bhatia, 2015).

Berdasarkan poin-poin di atas, maka yang paling memungkinkan untuk dievaluasi adalah poin keempat, yaitu kondisi media dan lingkungan. Pertama lingkungan aseptis, penggunaan ujung akar sebagai eksplan yang ditumbuhkan secara *in vitro* memiliki kelebihan selain dari sisi aseptis juga efisien untuk mendapatkan jumlah eksplan yang lebih banyak dalam waktu yang relatif bersamaan (Robledo-Paz & Tovar-Soto, 2012). Kedua media dasar, terdapat beberapa media dasar yang umum digunakan, yaitu media MS, White's, B5,

dan Nitsch's dan beberapa media lainnya (Bhatia, 2015).

Beberapa penelitian pada tanaman genus *Allium* menggunakan media dasar White's untuk induksi embriogenesis somatik pada *Allium sativum* (Sata *et al.*, 2000), media B5 untuk induksi kalus dan regenerasi tanaman pada *Allium chinense* (Bah *et al.*, 2012; Yan *et al.*, 2009), dan media BDS (*Basal Dunstan Short*) pada *A. sativum* untuk induksi variasi somaklonal (El-Aref, 2002) serta induksi embriogenesis somatik (Handini, 2023). Hal ketiga yang perlu diperhatikan penggunaan ZPT. Pikloram adalah ZPT dari golongan auksin yang secara umum memiliki peran penting dalam pertumbuhan dan perkembangan dari tingkat sel hingga individu tanaman (Morris *et al.* 2010). Penggunaan pikloram dilaporkan mampu menginduksi kalus dan banyak digunakan pada penelitian perbanyak *in vitro* tanaman *bulbous* lainnya dalam famili *Amaryllidaceae* (Chahal *et al.* 2023). Penggunaan pikloram secara tunggal (1,25 ppm) mampu menghasilkan 96% eksplan berkalus dan 93% diantaranya merupakan kalus embriogenik (Handini, 2023). Penelitian yang dilakukan oleh Takamori *et al.* (2015), mengungkapkan bahwa penggunaan pikloram pada konsentrasi rendah (2 mg L⁻¹) mampu menghasilkan kalus embriogenik pada *Urochloa* sp., dan memiliki respon lebih baik daripada penggunaan *dichlorophenoxyacetic acid* (2,4-D) pada konsentrasi yang sama. Sedangkan penggunaan pikloram konsentrasi tinggi (8 mg L⁻¹) kalus cenderung berubah menjadi kecoklatan. Selain itu, penelitian Roostika *et al.* (2012) menerangkan bahwa pikloram mampu menginduksi embriogenesis somatik pada tanaman nenas yang diawali dengan polarisasi sel, pembelahan asimetris,

pembentukan proembrio sebagai jaringan embriogenik dan jaringan embriogenik remah, serta perkembangan embrio.

Performa kalus representatif pada enam komposisi media dan empat genotipe bawang putih lokal

Pada penelitian ini tidak terjadi *browning* hingga akhir pekan ke-8 MSK pada kalus, eksplan, dan media. Hal tersebut diduga karena adanya asam amino dalam media, dalam hal ini adalah glisin yang terkandung dalam media dasar MS, L-glutamin, dan kasein hidrolisat (mengandung 18 asam amino) yang ditambahkan dalam media. Asam amino tersebut mampu mencegah aktivitas enzim polifenol oksidase sehingga tidak terjadi reaksi oksidasi penyebab pencoklatan pada kultur *in vitro* (Alagarsamy *et al.*, 2018). Tidak hanya dalam mencegah reaksi *browning*, namun penambahan L-glutamin dan kasein hidrolisat mampu menghantarkan kalus hingga mencapai tahap embriogenesis somatik. Pada penelitian Khajuria *et al.* (2021) perlakuan

kasein hidrolisat dan L-glutamin mampu menghasilkan 30 embrio somatik per *clump* kalus dan mampu mencapai kematangan embrio hingga 55% pada media MS dengan penambahan 20 g L⁻¹ kasein hidrolisat dan 50 mg L⁻¹ glutamin. Pada bawang putih varietas Tawangmangu Baru, embrio somatik dapat dihasilkan dengan penambahan kasein hidrolisat 100 mg sebanyak 12% pada media BDS (Handini, 2023).

Kalus dengan rentang waktu yang berbeda-beda, berikut berdasarkan urutan dari waktu induksi kalus tersingkat hingga terpanjang, Lumbu Putih (1-3 MSK), Lumbu Kuning dan Geol (1-8 MSK), serta Lumbu Hijau (2-8 MSK). Penelitian Farhadi *et al.* (2017) menunjukkan persamaan pada hasil penelitian ini, dimana penggunaan ZPT auksin secara tunggal mampu menginisiasi pembentukan kalus. Jika penelitian ini menggunakan ZPT pikloram secara tunggal pada *A. sativum*, maka penelitian Farhadi *et al.* menggunakan ZPT 2,4-D pada *A. hirtifolium*.



Gambar 1 Respon inisiasi kalus dari eksplan akar bawang putih: a) Lumbu Putih, b) Lumbu Kuning, dan c) Lumbu Hijau

Tabel 5 menampilkan ukuran diameter dan tinggi kalus representatif pada setiap genotipe dan media yang diujikan. Diameter dan tinggi kalus menunjukkan ukuran *clump* kalus yang berasal dari satu

eksplan potongan akar. Diameter dan tinggi kalus berdasarkan faktor genotipe, nilai diameter terbesar (14 mm) diperoleh dari genotipe Geol dan yang terkecil (1 mm) diperoleh dari genotipe Lumbu Kuning. Nilai

tinggi kalus yang terbesar (11 mm) diperoleh dari genotipe Geol dan yang terkecil (1 mm) diperoleh dari Lumbu Kuning. Diameter dan tinggi kalus berdasarkan faktor media, nilai diameter terbesar (14 mm) diperoleh pada media P4,

P4G, P6G dan P6GCH, sedangkan nilai terkecil (1 mm) diperoleh pada media P6, P6G, dan P4GCH. Nilai tinggi kalus yang terbesar (11 mm) diperoleh dari media P4G dan yang terkecil (1 mm) ditemukan pada seluruh media kecuali P6GCH.

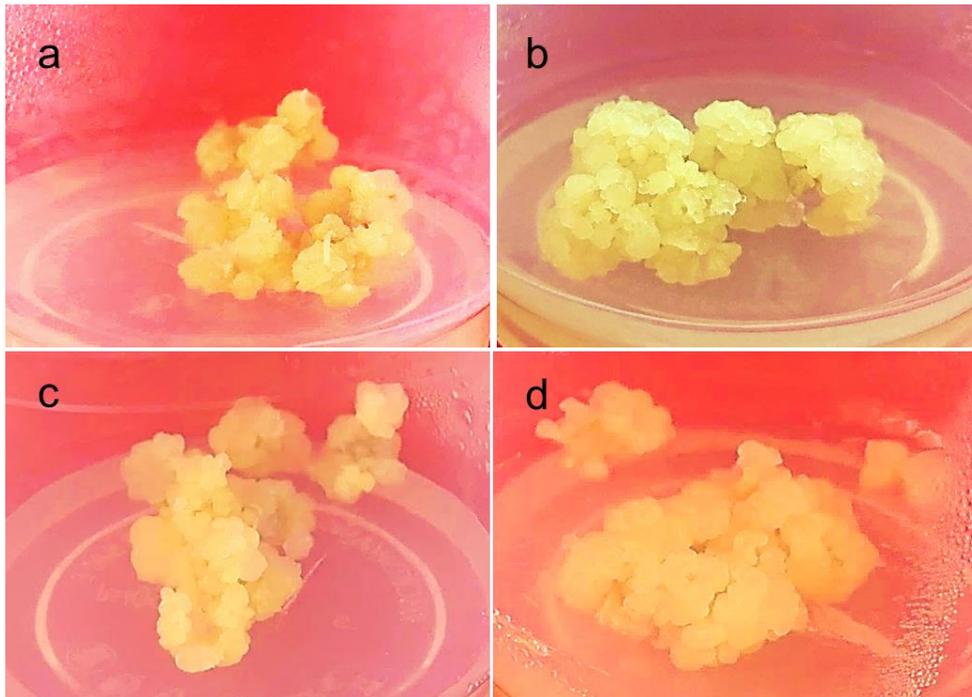
Tabel 5 Ukuran diameter dan tinggi pada kalus representatif

Faktor	Taraf	Rentang angka pengukuran kalus	
		Diameter (mm)	Tinggi (mm)
Genotipe	G	13 - 14	7 - 11
	LP	5,5 - 12,5	5 - 10
	LH	9 - 11	6 - 8
	LK	1 - 8,5	1 - 7
Media	P4	1,5 - 14	1 - 8
	P6	1 - 13,5	1 - 9
	P4G	1,5 - 14	1 - 11
	P6G	1 - 14	1 - 10
	P4GCH	1 - 13	1 - 9
	P6GCH	8,5 - 14	5 - 8

Keterangan: G = Geol; LP = Lumbu Putih; LH = Lumbu Hijau; LK = Lumbu Kuning; P4 = Pikloram 4 mg L⁻¹; P6 = Pikloram 6 mg L⁻¹; P4G = Pikloram 4 mg L⁻¹ + glutamin 100 mg L⁻¹; P6G = Pikloram 6 mg L⁻¹ + glutamin 100 mg L⁻¹; P4GCH = Pikloram 4 mg L⁻¹ + glutamin 100 mg L⁻¹ + kasein hidrolisat 3 g L⁻¹; P6GCH = Pikloram 6 mg L⁻¹ + glutamin 100 mg L⁻¹ + kasein hidrolisat 3 g L⁻¹

Pada penelitian Handini (2023), penggunaan pikloram secara tunggal (1,25 ppm) berpengaruh nyata terhadap panjang dan lebar kalus dibandingkan perlakuan kinetin secara tunggal baik pada perlakuan ruang gelap. Pada perlakuan ruang gelap selama 4 MST kemudian terang 25 MST, berbagai konsentrasi pikloram (0,25; 0,5; 0,75; 1; 1,25 ppm) tidak menunjukkan

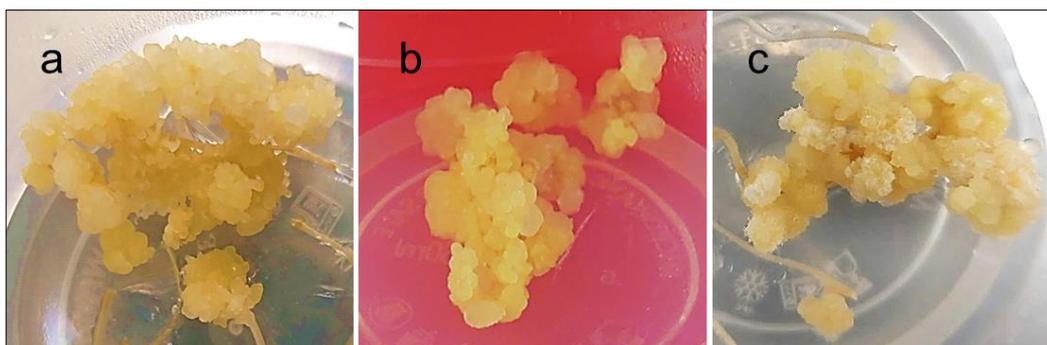
perbedaan yang nyata, namun ukuran kalus tertinggi didapatkan pada pikloram 1 ppm. Perlakuan gelap dan terang dapat mempengaruhi kerja auksin yang bergerak melawan arah datangnya cahaya dan dapat terdegradasi dengan hadirnya cahaya (fototropisme) dan melawan arah gravitasi (gravitropisme) (Morris *et al.* 2010).



Gambar 2 Bentuk kalus yang dihasilkan pada genotipe a) Geol, b) Lumbu Putih, c) Lumbu Hijau, dan d) Lumbu Kuning

Tabel 6 menunjukkan tipe kalus yang mendefinisikan tekstur, permukaan, dan warna *clump* kalus pada setiap media dan kalus. Kalus yang dihasilkan dapat dikelompokkan menjadi tiga tipe secara

umum, 1) kalus remah, mengkilap, putih bening; 2) kalus remah, mengkilap, bening kekuningan; 3) kalus padat, mengkilap, kekuningan hingga putih susu (Gambar 3).



Gambar 3 Tipe kalus yang terinisiasi dari eksplan akar bawang putih lokal: (a) kalus remah, mengkilap, putih bening; (b) kalus remah, mengkilap, bening kekuningan; (c) kalus padat, mengkilap, kekuningan hingga putih susu

Kalus yang diharapkan adalah kalus embriogenik, yaitu yang memiliki tekstur yang remah, tampak mengkilap, dan berwarna putih bening hingga bening

kekuningan (Shimizu *et al.*, 1997; Nie *et al.*, 2021). Kalus embriogenik berpotensi menghasilkan embrio somatik yang mampu beregenerasi menjadi tanaman

utuh, dan hal sebaliknya terjadi pada kalus non embriogenik (Takamori *et al.* 2015).

Tabel 6 Tipe kalus yang dihasilkan pada masing-masing genotipe dan media berdasarkan Gambar 3

Keterangan	Genotipe				Media					
	G	LP	LH	LK	P4	P6	P4G	P6G	P4GCH	P6GCH
Tipe kalus	a,b	a,b	b,c	b	a,b	a,b	B	a,b	a,b	a,b,c

Keterangan: G = Geol; LP = Lumbu Putih; LH = Lumbu Hijau; LK = Lumbu Kuning; P4 = Pikloram 4 mg L-1; P6 = Pikloram 6 mg L-1; P4G = Pikloram 4 mg L-1 + glutamin 100 mg L-1; P6G = Pikloram 6 mg L-1 + glutamin 100 mg L-1; P4GCH = Pikloram 4 mg L-1 + glutamin 100 mg L-1 + kasein hidrolisat 3 g L-1; P6GCH = Pikloram 6 mg L-1 + glutamin 100 mg L-1 + kasein hidrolisat 3 g L-1

SIMPULAN

1. Hasil penelitian ini menunjukkan respon induksi dan proliferasi kalus embriogenik pada empat varietas bawang putih lokal bersifat *genotype dependent*.
2. Varietas Lumbu Putih menunjukkan respon induksi kalus yang paling singkat (kurang dari 2 MSK), sedangkan varietas Geol memiliki persentase pembentukan kalus dan bobot kalus tertinggi dibandingkan genotipe lainnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis dedikasikan kepada Ibu Prof. Dr. Dewi Sukma, SP., M.Si dan Ibu Dr. Yudiwanti Wahyu EK., SP., M.Si atas dukungan, motivasi, dan keuangan waktu, pikiran, dan tenaga untuk terus memantau perjalanan penelitian yang dilakukan oleh penulis.

DAFTAR PUSTAKA

Abiyuddin, M. (2024). *Identifikasi senyawa antibakteri bawang hitam dari Pulau*

Lombok dengan pendekatan metabolomik. Institut Pertanian Bogor.

Ahmad, A., ul Qamar, M. T., Shoukat, A., Aslam, M. M., Tariq, M., Hakimian, M., & Joyia, F. A. (2021). The effects of genotypes and media composition on callogenesis, regeneration and cell suspension culture of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). *PeerJ*, 9. <https://doi.org/10.7717/peerj.11464>

Badan Pusat Statistik. (2022). *Produksi Tanaman Sayuran 2021-2022*. BPS. <https://www.bps.go.id/id/statistics-table/2/NjEjMg==/produksi-tanaman-sayuran.html>.

Bhatia, S. (2015). Plant Tissue Culture. In *Modern Applications of Plant Biotechnology in Pharmaceutical Sciences* (pp. 31–107). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802221-4.00002-9>

Ezeorba, T. P. C., Chukwudozie, K. I., Ezema, C. A., Anaduaka, E. G., Nweze, E. J., & Okeke, E. S. (2022). Potentials for health and therapeutic benefits of garlic essential oils: Recent findings and future prospects. *Pharmacological Research - Modern Chinese Medicine*, 3, 100075.

- <https://doi.org/10.1016/j.prmcm.2022.100075>
- Farhadi, N., Panahandeh, J., Azar, A. M., & Salte, S. A. (2017). Effects of explant type, growth regulators and light intensity on callus induction and plant regeneration in four ecotypes of Persian shallot (*Allium hirtifolium*). *Scientia Horticulturae*, 218, 80–86. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.11.056>
- Handini, R. (2023). *Induksi dan regenerasi kalus bawang putih (Allium sativum L.) kultivar tawangmangu baru menggunakan picloram dan kinetin secara in vitro*. Institut Pertanian Bogor.
- Kamenetsky, R., & Rabinowitch, H. D. (2016). Physiology of Domesticated Alliums: Onions, Garlic, Leek, and Minor Crops. In *Encyclopedia of Applied Plant Sciences* (Vol. 3, pp. 255–261). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394807-6.00064-2>
- Krishna, R., Ansari, W. A., Khandagale, K., Benke, A. P., Soumia, P. S., Manjunathagowda, D. C., Gawande, S. J., Ade, A. B., Mokat, D. N., & Singh, M. (2022). Chapter 14 - Meristem culture: A potential technique for in vitro virus-free plants production in vegetatively propagated crops. In A. Chandra Rai, A. Kumar, A. Modi, & M. Singh (Eds.), *Advances in Plant Tissue Culture* (pp. 325–343). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90795-8.00017-5>
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant*, 3(15), 473–497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Nie, H., Wang, Y., Wei, C., Grover, C. E., Su, Y., Wendel, J. F., & Hua, J. (2021). Embryogenic calli induction and salt stress response revealed by RNA-Seq in diploid wild Species *Gossypium sturtianum* and *Gossypium raimondii*. *Frontiers in Plant Science*, 12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.715041>
- Parreño, R., Rodríguez-Alcocer, E., Martínez-Guardiola, C., Carrasco, L., Castillo, P., Arbona, V., Jover-Gil, S., & Candela, H. (2023). Turning Garlic into a Modern Crop: State of the Art and Perspectives. *Plants*, 12(6). <https://doi.org/10.3390/plants12061212>
- [PUSDATIN] Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian. (2020). *Outlook Bawang Putih Komoditas Pertanian Subsektor Hortikultura*. Sekretariat Jenderal Kementerian Pertanian.
- Robledo-Paz, A., & Tovar-Soto, H. M. (2012). Biotechnological Tools for Garlic Propagation and Improvement. In Agbo EC (Ed.), *Innovations in Biotechnology* (pp. 31–56). In Tech Open. <https://doi.org/10.5772/30636>
- Safitri, M. (2021). *Preferensi konsumen terhadap komoditas bawang putih lokal dan bawang putih impor di Kecamatan Masbagik Kabupaten Lombok Timur* [Skripsi]. Universitas Mataram.
- Shang, A., Cao, S. Y., Xu, X. Y., Gan, R. Y., Tang, G. Y., Corke, H., Mavumengwana, V., & Li, H. Bin. (2019). Bioactive compounds and biological functions of garlic (*allium sativum* L.). In *Foods* (Vol. 8, Issue 7). MDPI Multidisciplinary Digital Publishing Institute. <https://doi.org/10.3390/foods8070246>

- Sharma, P., Sharma, S. R., Dhall, R. K., Mittal, T. C., & Bhatia, S. (2020). Physio-chemical behavior of γ -irradiated garlic bulbs under ambient storage conditions. *Journal of Stored Products Research*, 87. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2020.101629>
- Shimizu, K., Nagaike, H., Yabuya, T., & Adachi, T. (1997). Plant regeneration from suspension culture of *Iris germanica* L. In *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* (Vol. 50). Kluwer Academic Publishers.
- Takamori, L. M., Machado Neto, N. B., Vieira, L. G. E., & Ribas, A. F. (2015). Optimization of somatic embryogenesis and in vitro plant regeneration of *Urochloa* species using picloram. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 51(5), 554–563. <https://doi.org/10.1007/s11627-015-9701-1>
- Thomas, T. D. (2008). The role of activated charcoal in plant tissue culture. *Biotechnology Advances*, 26(6), 618–631. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.08.003>
- Wattimena, G., Nurhajati, Wiendi, N., Purwoko, B., Purwito, A., Efendi, D., & Khumaida, N. (2011). *Bioteknologi dalam Pemuliaan Tanaman*. IPB Press.
- Wen, Y., Liu, H., Meng, H., Qiao, L., Zhang, G., & Cheng, Z. (2022). In vitro Induction and Phenotypic Variations of Autotetraploid Garlic (*Allium sativum* L.) With Dwarfism. *Frontiers in Plant Science*, 13(917910), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.917910>
- Wiendi, N., Wattimena, G., & Prasetyanti, E. (1996). Perbanyakan in vitro tanaman bawang putih (*Allium sativum* L.) varietas lumbu putih melalui induksi tunas adventif. *Bul. Agron.*, 24(1), 15–20. <https://doi.org/10.24831/jai.v24i1.1617>