

## Keragaman Morfologi Kalus Bawang Putih (*Allium sativum* L.) Akibat Perlakuan Kolkisin pada Kultur In Vitro

### Morphological Variability of Garlic (*Allium sativum* L.) Callus Caused by Colchicine Treatments on In Vitro Culture

Gabrielle Khaledea Salimi\*), Damanhuri, dan Dita Agisimanto

Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya  
Jl. Veteran, Malang 65145 Jawa Timur

\*Email : [gabrielleks2@gmail.com](mailto:gabrielleks2@gmail.com)

#### ABSTRAK

Bawang putih (*Allium sativum* L.) sebagai bahan dasar bumbu masak sudah tidak asing lagi bagi masyarakat Indonesia. Varietas yang berkembang di Indonesia belum mampu bersaing dengan varietas bawang impor, sehingga perlu diupayakan untuk merakit varietas unggul baru. Poliploidisasi salah satu metode untuk meningkatkan keragaman genetik dalam program pemuliaan. Kolkisin merupakan salah satu mutagen yang menyebabkan peningkatan ploidi. Perubahan yang terjadi pada tanaman akibat pemberian kolkisin bervariasi. Kepekaan tanaman terhadap kolkisin berbeda antara spesies sehingga konsentrasi dan lama aplikasi berbeda untuk setiap spesies tanaman. Penelitian dengan tujuan untuk mengetahui keragaman morfologi kalus bawang putih akibat perlakuan beberapa konsentrasi dan lama aplikasi mutagen kolkisin telah dilaksanakan di Laboratorium Somatic Embryogenesis, Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika (Balitjestro) di Desa Tlekung, Kecamatan Junrejo, Kota Batu, Jawa Timur pada bulan Juni sampai September 2020. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 10 kombinasi perlakuan konsentrasi kolkisin (500, 1000, 1500 ppm) dan lama aplikasi kolkisin (1, 3, dan 5 hari). Setiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak tiga kali. Perbedaan kombinasi perlakuan kolkisin memberikan perbedaan karakter morfologi yang nyata. Keragaman morfologi variabel pengamatan

pada penelitian ini termasuk dalam kategori rendah sampai sedang dengan nilai berkisar 6,51-31,34%. Konsentrasi kolkisin yang memiliki keragaman tinggi berdasarkan nilai koefisien keragaman pada variabel panjang dan lebar embrio somatik yaitu kolkisin 500 dan 1000 ppm dengan lama aplikasi 1 dan 3 hari.

Kata Kunci: Bawang Putih, Kalus, Keragaman Morfologi, Kolkisin

#### ABSTRACT

Garlic (*Allium sativum* L.) as a basic ingredient in cooking spices is familiar to Indonesian people. The varieties developed in Indonesia have not been able to compete with imported garlic varieties, so efforts need to create new superior varieties. Polyploidy is a method to increase genetic variability in breeding programs. Colchicine is a mutagen that causes increase ploidy. The changing that occur in plants due to inducing colchicine are varies. The sensitivity of plants to colchicine differs among species so that the concentration and time of application will be different for each plant species. The reseach aims to know morphological variability of callus garlic due to the use of several concentrations and the duration of application of the colchicine mutagen was conducted at Somatic Embryogenesis Laboratory, Citrus and Subtropical Fruits Research Institute (ICISFRI), located in the village of Tlekung, Junrejo District, Batu, East Java from June to September

2020. This study used a Completely Randomized Design. (CRD) which consisted of 10 treatment combinations for colchicine concentration (500, 1000, 1500 ppm) and duration of colchicine application (1, 3, and 5 days). Each treatment combination was repeated three times. The difference in colchicine treatment combination gave a significantly different in morphological characters. The coefficient of variation of the observation varies in this study was included in the low to moderate category with values ranging from 6.51 to 31.34%. Colchicine concentrations that have high variability based on the coefficient of variation on the length and width of somatic embryos are colchicine 500 and 1000 ppm with time of application 1 and 3 days.

Key Words: Callus, Colchicine, Garlic Morphological Variability.

## PENDAHULUAN

Pemanfaatan bawang putih sebagai bahan dasar bumbu masak sudah tidak asing lagi bagi masyarakat Indonesia. Konsumsi bawang putih tahun 2017-2019 terus meningkat rata-rata sebesar 3,91%. Konsumsi bawang putih pada skala rumah tangga yaitu 477.968,45 ton pada tahun 2017 dan terus meningkat menjadi 564.389,56 pada tahun 2019 (Badan Pusat Statistik, 2019). Data terakhir menunjukkan tahun 2019 produksi bawang putih mencapai 22.195,57 (Badan Pusat Statistik, 2019) sehingga produksi bawang putih dalam negeri belum bisa memenuhi kebutuhan bawang putih nasional. Untuk memenuhi kebutuhan tersebut dilakukan impor bawang putih pada tahun 2016 sebesar 95 persen dari total kebutuhan domestik (Badan Pusat Statistik, 2017).

Studi tentang ploidisasi sering dikaitkan dengan ukuran morfologi suatu tanaman (Ravandi *et al.*, 2013), Poliploid memiliki peran penting dalam keragaman genetik dan fenotip serta dalam evolusi tanaman dan pemuliaan (Dhoogheet *et al.*, 2011). Peningkatan ploidi (autotetraploid) dapat meningkatkan metabolit sekunder suatu tanaman (Mishra *et al.*, 2010).

Kolkisin merupakan salah satu mutagen yang menyebabkan peningkatan ploidi (jumlah set kromosom). Perubahan yang terjadi pada tanaman akibat pemberian kolkisin bisa bervariasi (Crowder, 1997). Kepekaan terhadap kolkisin berbeda antara spesies tanaman sehingga konsentrasi dan lama aplikasi akan berbeda untuk setiap spesies, bahkan untuk bagian tanaman yang berbeda (Saraswati, *et al.*, 2017). Sehingga diharapkan terdapat peningkatan keragaman morfologi kalus bawang putih akibat penggunaan beberapa konsentrasi dan lama aplikasi mutagen kolkisin pada media kultur *in vitro*.

## BAHAN DAN METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni sampai dengan September 2020 di Laboratorium Somatik Embriogenesis, Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika yang terletak di Jalan Raya Tlekung Nomor 1, Beji, Kecamatan Junrejo, Kota Batu, Jawa Timur.

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah; timbangan analitik, *erlenmeyer*, mikropipet, *beaker glass*, gelas ukur 1000 ml, *hot plate magnetic stirrer*, *petri dish*, plastik tahan panas, karet, label, *pH meter*, *autoclave*, *flame boy*, kompor, panci, pinset, *scalpel blade*, *sprayer*, gelas ukur 100 ml, botol kultur, botol balsam, bunsen, pisau, kain saring, rak kultur, termohigrometer, mikroskop, alat tulis, penggaris, dan kamera. Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah; benih varietas bawang putih lokal Sangga Sembalun, kolkisin (0,05%, 0,1%, dan 0,15%), media dasar Murashige dan Skoog (MS), agar-agar, gula, vitamin, Myo Ino, 2,4 Diklorofenoksiasetat (2,4 D), aquades, aquades steril, alkohol 70%, alkohol 96%, NaOCl 5,2% (Clorox), Benomil 50%, NaOH 1N, HCl 1N, spiritus, BAP, dan NAA.

Penelitian dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) terdiri dari 1 perlakuan kontrol (K0) dan 9 kombinasi perlakuan konsentrasi (500, 1000, 1500 ppm) dan lama aplikasikolkisin (1, 3, dan 5 hari) (K1D1, K1D2, K1D3, K2D1, K2D2, K2D3, K3D1,

K3D2, dan K3D3) diulang sebanyak 3 kali. Masing-masing percobaan terdiri atas 5 eksplan sehingga jumlah tanaman yang ditanam sebanyak 150 eksplan. Pengamatan dilakukan pada variabel-variabel kuantitatif dan kualitatif.

Variabel pengamatan dalam penelitian ini terdiri dari karakter kuantitatif dan karakter kualitatif. Karakter kuantitatif terdiri atas persentase berkalus (%), persentase kalus embriogenik (%), panjang embrio somatik (mm), lebar embrio somatik (mm), berat basah kalus (g), dan persentase bertunas (%) sedangkan karakter kualitatif terdiri atas warna kalus dan tekstur kalus.

Data yang didapatkan dari hasil pengamatan selanjutnya akan dilakukan analisis dengan menggunakan analisis ragam (ANOVA) dan dilakukan dengan uji F hitung. Apabila perlakuan menunjukkan pengaruh beda nyata maka dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf 5%. Selanjutnya dilakukan analisis ragam rata-rata, rentang, ragam, simpangan baku, dan koefisien keragaman (Crowder, 1997):

- a. Rerata populasi

$$\bar{X} = \frac{X_1 + X_2 + X_3 + \dots + X_N}{N}$$

$\bar{X}$  = nilai rerata,

$X_i$  = nilai karakter kuantitatif,

$N$  = jumlah tanaman.

- b. Rentang (R)

$$R = X_{\max} - X_{\min}$$

$R$  = rentang,

$X_{\max}$  = nilai terbesar,

$X_{\min}$  = nilai terkecil.

- c. Ragam ( $s^2$ )

$$s^2 = \frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{N}$$

$s^2$  = ragam,

$X_i$  = nilai karakter kuantitatif,

$\bar{X}$  = nilai rerata populasi

$N$  = jumlah tanaman.

- d. Simpangan Baku ( $s$ )

$$s = \sqrt{\frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{N}}$$

= simpangan baku,

$X_i$  = nilai karakter kuantitatif,

$\bar{X}$  = nilai rerata populasi,

$N$  = jumlah tanaman.

- e. Koefisien Keragaman (KK)

$$KK = \frac{s}{\bar{X}} \times 100\%$$

KK = koefisien keragaman,

= simpangan baku,

$\bar{X}$  = nilai rerata populasi

Menurut Suratmanet *al.* (2000), nilai koefisien keragaman digolongkan rendah (0,1% - 25%), sedang (25,1% - 50%), dan tinggi (>50,1%).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Secara umum, tanaman yang telah mengalami proses inisiasi menunjukkan kondisi baik, hal ini didukung dengan pertumbuhan kalus yang baik pada dua minggu setelah tanam (MST) namun, setelah perlakuan kolkisin pertumbuhan bawang putih menunjukkan beberapa tanaman yang berubah warna menjadi coklat. Proses *recovery* dilakukan setelah perlakuan kolkisin pada media MS yang ditambahkan ZPT BAP:NAA 2:1 ml/L. Setelah beberapa kali melakukan subkultur hingga pengamatan terakhir (13 MST) terdapat 8,1% tanaman yang terkena kontaminasi jamur dan bakteri. Jamur dan bakteri berasal dari media kultur dan merambat ke tanaman. Kegiatan penelitian secara keseluruhan mulai dari inisiasi sampai pengamatan variabel berjalan dengan baik.

Berikut merupakan tabel rekapitulasi hasil analisis ragam pada variabel persentase berkalus (%), persentase kalus embriogenik (%), panjang embrio somatik (mm), lebar embrio somatik (mm), berat basah kalus (g), dan persentase bertunas (%). Secara keseluruhan, hasil pengamatan pada perlakuan kontrol dan 9 kombinasi perlakuan konsentrasi kolkisin dan lama aplikasi kolkisin menunjukkan perbedaan karakter morfologi yang nyata. Koefisien keragaman pada penelitian kali ini berkisar antara 6,51-31,34% sehingga dapat diketahui keragaman termasuk rendah

**Tabel 1.** Rekapitulasi Hasil Analisis Ragam pada Variabel Pengamatan

Variabel Pengamatan	Umur (MST)	F Hitung	KK (%)
Persentase berkalus (%)	2	1,43 <sup>tn</sup>	12,84
	4	0,82 <sup>tn</sup>	12,12
	6	0,81 <sup>tn</sup>	6,51
Persentase kalus embriogenik (%)	6	2,90*	13,00
Panjang embrio somatik(mm)	6	14,89*	15,50
	8	4,33*	24,60
	10	3,92*	27,10
Lebar embrio somatik(mm)	6	10,46*	22,56
	8	4,31*	29,73
	10	3,62*	29,78
Berat basah kalus (g)	11	3,84*	31,34
	12	3,34*	28,58
	13	1,08 <sup>tn</sup>	26,78
Persentase bertunas (%)	10	2,81*	30,24
	12	2,97*	28,47

Keterangan: (MST) Minggu Setelah Tanam, (KK) Koefisien Keragaman, (\*) berbeda nyata pada taraf 5%, (tn) tidak berbeda nyata pada taraf 5%.

**Tabel 2.** Rerata variabel persentase berkalus, persentase kalus embriogenik, persentase bertunas, dan berat basah kalus

Perlakuan	P. Berkalus (%)			P. K. Embriogenik (%)	P. Bertunas (%)		Berat Basah Kalus (g)		
	2 MST	4 MST	6 MST		10 MST	12 MST	11 MST	12 MST	13 MST
K0	71,43	85,71	90,48	66,67 a	6,67a	6,67a	0,18a	0,34a	0,59a
K1D1	100,00	100,00	100,00	80,00ab	6,67a	13,33 ab	0,29ab	0,76b	0,93a
K1D2	90,48	95,24	100,00	86,67b	13,33ab	13,33 ab	0,42ab	0,40ab	0,81a
K1D3	85,71	90,48	95,24	80,00ab	26,67ab	26,67 ab	0,52b	0,58ab	0,72a
K2D1	80,95	85,71	100,00	86,67b	13,33ab	13,33 ab	0,39ab	0,78b	0,70a
K2D2	90,48	100,00	100,00	100,00b	40,00b	40,00 b	0,48b	0,66b	0,82a
K2D3	90,48	100,00	100,00	100,00b	40,00b	40,00 b	0,77c	0,89b	0,90a
K3D1	90,48	90,48	100,00	100,00b	13,33ab	13,33 ab	0,64bc	0,97b	1,06a
K3D2	90,48	90,48	100,00	86,67b	33,33b	40,00 b	0,51b	0,52ab	0,81a
K3D3	95,24	100	100,00	100,00b	40,00b	40,00 b	0,55bc	0,70b	0,76a
BNJ 5%	tn	tn	tn	18,86	23,86	23,10	0,24	0,31	tn

Keterangan: angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama berbeda nyata berdasarkan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf = 5%.

**Tabel 3.** Hasil analisis total, rerata, data tertinggi, data terendah, rentang, ragam, standar deviasi, dan koefisien keragaman data panjang embrio somatik pada fase globular

Perlakuan	X	Xmax	Xmin	R	$\sigma^2$	$\sigma$	KK (%)	Kriteria
K0	0,50a	0,50	0,50	0,00	0,00	0,00	0,00	Rendah
K1D1	0,78ab	1,35	0,00	1,35	0,22	0,46	58,97	Tinggi
K1D2	0,94b	1,90	0,00	1,90	0,59	0,77	81,91	Tinggi
K1D3	1,07b	1,93	0,73	1,20	0,11	0,32	29,91	Sedang
K2D1	0,78ab	2,01	0,11	1,90	0,34	0,58	74,36	Tinggi
K2D2	1,66c	2,83	0,20	2,63	0,36	0,60	36,14	Sedang
K2D3	1,60c	2,28	0,20	2,08	0,43	0,66	41,25	Sedang
K3D1	1,13b	1,83	0,16	1,67	0,24	0,49	43,36	Sedang
K3D2	1,11b	2,06	0,25	1,81	0,33	0,57	51,35	Tinggi
K3D3	1,49c	2,30	0,24	2,06	0,26	0,51	34,23	Sedang

BNJ (5%) 0,28

Keterangan:  $\Sigma$  = total data populasi perlakuan, X = rata-rata populasi perlakuan, Xmax = data tertinggi, Xmin = data terendah, R = rentang,  $\sigma^2$  = ragam,  $\sigma$  = standar deviasi, KK= koefisien keragaman, angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama berbeda nyata berdasarkan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf  $\alpha$  = 5%.

**Tabel 4.** Hasil analisis total, rerata, data tertinggi, data terendah, rentang, ragam, standar deviasi, dan koefisien keragaman data panjang embrio somatik pada fase heart

Perlakuan	X	Xmax	Xmin	R	$\sigma^2$	$\sigma$	KK (%)	Kriteria
K0	0,61a	1,16	0,13	1,03	0,05	0,22	36,06	Sedang
K1D1	1,21b	2,55	0,00	2,55	0,51	0,71	58,68	Tinggi
K1D2	1,00ab	2,23	0,00	2,23	0,39	0,62	62,00	Tinggi
K1D3	1,43bc	3,12	0,23	2,89	0,68	0,83	58,04	Tinggi
K2D1	0,84ab	1,99	0,00	1,99	0,64	0,80	95,24	Tinggi
K2D2	1,85c	3,59	0,56	3,03	0,48	0,69	37,30	Sedang
K2D3	1,63bc	3,86	0,26	3,60	0,76	0,86	52,76	Tinggi
K3D1	1,27b	3,07	0,19	2,88	0,76	0,87	68,50	Tinggi
K3D2	1,43bc	2,59	0,18	2,41	0,64	0,80	55,94	Tinggi
K3D3	1,56bc	2,20	0,23	1,97	0,35	0,59	37,82	Sedang

BNJ (5%) 0,52

Keterangan:  $\Sigma$  = total data populasi perlakuan, X= rata-rata populasi perlakuan, Xmax = data tertinggi, Xmin = data terendah, R = rentang,  $\sigma^2$  = ragam,  $\sigma$  = standar deviasi, KK= koefisien keragaman, angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama berbeda nyata berdasarkan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf  $\alpha$  = 5%.

**Tabel 5.** Hasil analisis total, rerata, data tertinggi, data terendah, rentang, ragam, standar deviasi, dan koefisien keragaman data panjang embrio somatik pada fase torpedo

Perlakuan	X	Xmax	Xmin	R	$\sigma^2$	$\sigma$	KK (%)	Kriteria
K0	0,68a	1,20	0,45	0,75	0,03	0,18	26,47	Sedang
K1D1	1,46b	2,25	0,35	1,90	0,32	0,56	38,36	Sedang
K1D2	1,27ab	2,60	0,49	2,11	0,36	0,60	47,24	Sedang
K1D3	1,51b	3,08	0,73	2,35	0,45	0,67	44,37	Sedang
K2D1	0,88ab	1,61	0,27	1,34	0,12	0,34	38,64	Sedang
K2D2	1,88b	3,37	0,36	3,01	0,60	0,78	41,49	Sedang
K2D3	1,71b	3,17	0,64	2,53	0,50	0,71	41,52	Sedang
K3D1	2,00b	3,17	0,94	2,23	0,48	0,70	35,00	Sedang
K3D2	2,11b	2,37	0,29	2,08	0,35	0,59	27,96	Sedang
K3D3	1,83b	3,68	0,21	3,47	0,68	0,83	45,36	Sedang
BNJ (5%)				0,68				

Keterangan:  $\Sigma$  = total data populasi perlakuan, X = rata-rata populasi perlakuan, Xmax = data tertinggi, Xmin = data terendah, R = rentang,  $\sigma^2$  = ragam,  $\sigma$  = standar deviasi, KK = koefisien keragaman angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama berbeda nyata berdasarkan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf  $\alpha = 5\%$ .

**Tabel 6.** Hasil analisis total, rerata, data tertinggi, data terendah, rentang, ragam, standar deviasi, dan koefisien keragaman data lebar embrio somatik pada fase globular

Perlakuan	X	Xmax	Xmin	R	$\sigma^2$	$\sigma$	KK (%)	Kriteria
K0	0,50a	0,50	0,50	0,00	0,00	0,00	0,00	Rendah
K1D1	0,5 a	1,24	0,00	1,24	0,22	0,47	87,04	Tinggi
K1D2	0,7 ab	1,85	0,00	1,85	0,32	0,56	78,87	Tinggi
K1D3	1,40bc	2,20	0,14	2,06	0,40	0,63	45,00	Sedang
K2D1	0,65a	1,81	0,13	1,68	0,18	0,43	66,15	Tinggi
K2D2	1,61c	2,16	0,79	1,37	0,15	0,39	24,22	Rendah
K2D3	1,54c	1,94	0,72	1,22	0,19	0,43	27,92	Sedang
K3D1	0,83ab	1,64	0,13	1,51	0,21	0,46	55,42	Tinggi
K3D2	1,06b	1,66	0,25	1,41	0,15	0,39	36,79	Sedang
K3D3	1,36bc	1,93	0,55	1,38	0,23	0,48	35,29	Sedang
BNJ (5%)				0,38				

Keterangan:  $\Sigma$  = total data populasi perlakuan, X = rata-rata populasi perlakuan, Xmax = data tertinggi, Xmin = data terendah, R = rentang,  $\sigma^2$  = ragam,  $\sigma$  = standar deviasi, KK = koefisien keragaman, angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama berbeda nyata berdasarkan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf  $\alpha = 5\%$ .

sampai sedang. Hal ini didukung oleh Suratman *et al.* (2000), nilai koefisien keragaman digolongkan rendah (0,1% - 25%), sedang (25,1% - 50%), dan tinggi (>50,1%). Nilai keragaman dapat dipengaruhi oleh dua faktor yaitu faktor genetik, faktor lingkungan, maupun interaksi dari kedua faktor tersebut (Hadiet *al.*, 2014)

Nilai KK terendah dimiliki oleh variabel persentase berkalus yaitu sebesar 6,51% sedangkan nilai KK tertinggi dimiliki oleh variabel berat basah kalus dengan nilai KK 31,34%. Nilai KK menggambarkan keragaman pada suatu populasi. Induksi mutasi bertujuan meningkatkan keragaman, sehingga mutasi dapat meningkatkan nilai

KK pada suatu populasi (Sintaet *al.*, 2017). Pada penelitian ini menunjukkan bahwa aplikasi kolkisin pada eksplan bawang putih secara *in vitro* meningkatkan keragaman. Kolkisin merupakan salah satu mutagen yang menyebabkan peningkatan ploidi (Dhoogheet *al.*, 2011). Poliploidi memiliki peran penting dalam keragaman genetik. Berdasarkan pernyataan tersebut dapat diketahui kolkisin memberi pengaruh nyata yang tinggi pada variabel berat basah kalus dan tidak memberi pengaruh nyata pada variabel persentase berkalus. Secara keseluruhan, hasil pengujian variabel pengamatan yang tidak berpengaruh nyata oleh perlakuan kolkisin yaitu persentase berkalus sedangkan variabel persentase kalus embriogenik, panjang embrio somatik, lebar embrio somatik, dan berat basah kalus memiliki pengaruh yang nyata. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan berbagai konsentrasi kolkisin pada media dengan rentang waktu tertentu tidak berpengaruh pada persentase berkalus eksplan bawang putih.

Berikut merupakan tabel rerata variabel persentase berkalus, persentase kalus embriogenik, persentase bertunas, dan berat basah kalus. Kalus embriogenik mengindikasikan keberhasilan eksplan membentuk embrio. Kalus embriogenik

merupakan kalus yang terdiri dari nodul-nodul yang memiliki kemampuan beregenerasi menjadi tunas maupun embrio. Ciri-ciri kalus embriogenik yaitu memiliki warna putih atau kekuningan dengan bentuk *semi friable* (kompak namun dapat dipisahkan) (Wijayanto, 2016). Pengamatan variabel persentase embriogenik dilakukan setelah mengamati persentase berkalus eksplan bawang putih yaitu pada 6 MST. Persentase kalus embriogenik rendah dimiliki oleh perlakuan kontrol (K0) dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan K1D2 dan K1D3, namun berbeda nyata dengan perlakuan lain. Sebagian besar persentase kalus embriogenik yang diberi perlakuan kolkisin mempunyai nilai lebih tinggi. Hal ini sesuai dengan penelitian Damayantiet *al.* (2011), menyatakan bahwa dengan adanya perlakuan kolkisin ternyata dapat merangsang pertumbuhan kultur lebih baik daripada kontrol. Pada penelitian Damayantiet *al.* (2011), perlakuan kolkisin menghasilkan kalus yang bersifat somatik embriogenik, hal ini sangat potensial untuk perbaikan tanaman melalui teknik kultur jaringan dan rekayasa genetik.

Eksplan bawang putih yang telah mengalami fase embriogenesis akan tumbuh tunas. Eksplan mulai tumbuh tunas pada umur 10 MST sehingga dilakukan

**Tabel 7.** Hasil analisis total, rerata, data tertinggi, data terendah, rentang, ragam, standar deviasi, dan koefisien keragaman data lebar embrio somatik pada fase heart

Perlakuan	X	Xmax	Xmin	R	2		KK (%)	Kriteria
K0	0,51a	0,67	0,50	0,17	0,002	0,042	8,24	Rendah
K1D1	0,91ab	2,00	0,00	2,00	0,30	0,55	60,44	Tinggi
K1D2	0,86ab	1,78	0,00	1,78	0,30	0,55	63,95	Tinggi
K1D3	1,47b	2,91	0,22	2,69	0,52	0,72	48,98	Sedang
K2D1	0,64ab	1,86	0,00	1,86	0,37	0,60	93,75	Tinggi
K2D2	1,63b	2,28	0,48	1,80	0,27	0,52	31,90	Sedang
K2D3	1,59b	2,94	0,18	2,76	0,35	0,59	37,11	Sedang
K3D1	1,05b	3,02	0,17	2,85	0,53	0,73	69,52	Tinggi
K3D2	1,09b	2,46	0,16	2,30	0,37	0,61	55,96	Tinggi
K3D3	1,45b	2,59	0,52	2,07	0,29	0,54	38,62	Sedang
BNJ (5%)				0,54				

Keterangan: = total data populasi perlakuan, X = rata-rata populasi perlakuan, Xmax = data tertinggi, Xmin = data terendah, R = rentang, 2 = ragam, = standar deviasi, KK = koefisien keragaman, angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama berbeda nyata berdasarkan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf = 5%.

**Tabel 8.** Hasil analisis total, rerata, data tertinggi, data terendah, rentang, ragam, standar deviasi, dan koefisien keragaman data lebar embrio somatik pada fase torpedo

Perlakuan	X	Xmax	Xmin	R	$\sigma$	SD	KK (%)	Kriteria
K0	0,55a	1,08	0,30	0,78	0,33	0,19	34,55	Sedang
K1D1	1,04ab	1,90	0,41	1,49	0,20	0,45	43,27	Sedang
K1D2	0,90ab	1,93	0,32	1,61	0,16	0,40	44,44	Sedang
K1D3	1,50b	2,64	0,76	1,88	0,29	0,54	66,67	Tinggi
K2D1	0,74a	1,89	0,19	1,70	0,12	0,34	45,95	Sedang
K2D2	1,76b	3,13	0,83	2,30	0,33	0,57	32,39	Sedang
K2D3	1,64b	2,53	0,91	1,62	0,20	0,45	27,44	Sedang
K3D1	1,46b	2,24	0,18	2,06	0,37	0,61	41,78	Sedang
K3D2	1,37b	2,37	0,29	2,08	0,35	0,59	43,07	Sedang
K3D3	1,50b	2,37	0,54	1,83	0,25	0,50	33,33	Sedang
BNJ (5%)	0,61							

Keterangan:  $\bar{X}$  = total data populasi perlakuan,  $X$  = rata-rata populasi perlakuan,  $X_{max}$  = data tertinggi,  $X_{min}$  = data terendah,  $R$  = rentang,  $\sigma^2$  = ragam,  $SD$  = standar deviasi,  $KK$  = koefisien keragaman, angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama berbeda nyata berdasarkan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf  $\alpha = 5\%$ .

pengamatan presentase bertunas pada umur 10 dan 12 MST. Pada penelitian kali ini presentase eksplan bertunas <50% pada setiap perlakuan. Perlakuan yang mengalami peningkatan persentase bertunas yaitu K1D1 dari 6,67% menjadi 13,33% dan K3D2 dari 33,33% menjadi 40,00% sedangkan perlakuan lain memiliki nilai persentase bertunas yang stationer. menjadi tunas.

Persentase bertunas terendah yaitu pada perlakuan K0 (kontrol). Hal ini tidak sesuai dengan Hartatiet *al.* (2018) perlakuan yang dapat beregenerasi menghasilkan tunas yaitu perlakuan dengan konsentrasi kolkisin 0,01% dan 0,03% sedangkan pada perlakuan 0,05% kemampuan beregenerasi cenderung rendah. Hal ini dapat disebabkan oleh mutagen kolkisin yang bekerja secara acak. Senyawa kolkisin dapat menginduksi mutasi secara acak, sehingga memberikan efek yang tidak seragam pada masing-masing sel ditiap individu (Pharmawati dan Wistiani, 2015) Perlakuan kolkisin dengan jangka waktu yang lebih lama dapat menghasilkan pengaruh baik bagi tanaman (Hartatiet *al.*, 2018). Glowacka *et al.* (2010), menambahkan bahwa perlakuan kolkisin dengan lama 4 hari bekerja efektif menghasilkan kalus yang beregenerasi

Berat basah kalus pada penelitian kali ini cenderung mengalami peningkatan pada setiap perlakuan kecuali pada perlakuan K2D1 pada 12 MST berat basah kalus sebesar 0,78 gr dan pada 13 MST turun menjadi 0,70 gr. Penurunan berat basah dikarenakan terdapat tanaman yang mengalami kontaminasi sehingga terjadi penurunan rerata berat basah kalus. Berat basah kalus perlakuan control umur 11 dan 12 MST mempunyai nilai rendah dan berbeda nyata dengan beberapa perlakuan kolkisin K2D2, K2D3 dan K3D3. Hal ini sejalan dengan pendapat Suryo (1995) dalam Haryantiet *al.* (2009) yang mengemukakan bahwa larutan kolkisin efektif pada konsentrasi 0,001-1,00% selanjutnya pendapat Damayanti (2011), menambahkan bahwa eksplan yang Embriogenesis diawali dengan fase globular, heart, lalu torpedo. Pada penelitian kali ini, diukur panjang dan lebar embrio somatik pada setiap fasenya. Secara umum, setiap fase mengalami penambahan ukuran. Perlakuan kontrol K0 memiliki panjang dan lebar embrio somatik rendah pada setiap fase embriogenesis dan berbeda nyata dengan perlakuan

K1D3, K2D2, K2D3, K3D2, K3D3. Hal ini sejalan dengan penelitian Haryanti *et al.*

Tabel 9. Rerata tekstur dan warna kalus eksplan bawang putih

Perlakuan	Tekstur	Warna Kalus						SD
		P	PH	PK	KP	K	C	
		-----%-----						
K0	<i>semi friable</i>	0,00	0,00	13,33	26,67	26,67	33,33	14,45
K1D1	<i>semi friable</i>	6,67	0,00	20,00	33,33	6,67	33,33	14,45
K1D2	<i>semi friable</i>	0,00	26,67	20,00	6,67	6,67	40,00	15,06
K1D3	<i>semi friable</i>	0,00	0,00	6,67	53,33	26,67	13,33	20,55
K2D1	<i>semi friable</i>	0,00	6,67	33,33	33,33	0,00	26,67	16,19
K2D2	<i>semi friable</i>	0,00	6,67	20,00	46,67	13,33	13,33	16,19
K2D3	<i>semi friable</i>	6,67	0,00	0,00	40,00	26,67	26,67	16,73
K3D1	<i>semi friable</i>	0,00	6,67	33,33	20,00	6,67	33,33	14,45
K3D2	<i>semi friable</i>	0,00	0,00	6,67	53,33	20,00	20,00	20,11
K3D3	<i>semi friable</i>	0,00	0,00	0,00	40,00	20,00	40,00	19,66

Keterangan: (P) Putih, (PH) Putih Kehijauan, (PK) Putih Kekuningan, (KP) Kuning Pucat, (K) Kuning, C (Coklat), SD (Standar Deviasi)

(2009) yang menyatakan bahwa ukuran sel pada perlakuan kolkisin 0,05% (500 ppm) cenderung sama dengan kontrol, sedangkan pada perlakuan kolkisin 0,1% (1000 ppm), dan 0,15% (1500 ppm) terlihat lebih besar dibandingkan dengan perlakuan kontrol dan kolkisin 0,05%. Pembesaran ukuran sel ini disebabkan penambahan kromosom yang menyebabkan penambahan ukuran pada sel dibandingkan dengan perlakuan tanpa kolkisin (kontrol). Sementara itu, masing-masing perlakuan pada panjang embrio somatik fase globular memiliki koefisien keragaman dengan kategori rendah sampai tinggi (0,00%-81,91%), pada fase heart dipengaruhi oleh efek kolkisin yaitu memiliki koefisien keragaman dengan kategori sedang sampai tinggi (36,06%-95,24%), dan pada fase torpedo memiliki koefisien keragaman dengan kategori sedang (26,47%-47,24%). Pada lebar embrio somatik fase globular memiliki koefisien keragaman dengan kategori rendah sampai tinggi (0,00%-87,04%), pada fase heart memiliki koefisien keragaman dengan kategori rendah sampai tinggi (8,24%-93,75%), dan pada fase torpedo memiliki koefisien keragaman dengan kategori sedang (27,44%-66,67%). Perlakuan kontrol memiliki nilai koefisien keragaman terkecil dibandingkan perlakuan

kolkisin lainnya dalam variabel panjang embrio somatik fase globular (0,00%), heart (36,06%), dan torpedo (26,47%) maupun pada variabel lebar embrio somatik fase globular (0,00%) dan heart (8,24%) sedangkan pada lebar embrio somatik fase torpedo nilai koefisien keragaman terkecil dimiliki oleh perlakuan K2D3 (27,44%). Hal ini sesuai dengan Harahap (2011), yang menyatakan bahwa kolkisin merupakan salah satu senyawa mutagen yang dapat meningkatkan keragaman karena terjadinya peningkatan ploidi (jumlah set kromosom) pada sel-sel yang aktif membelah. Karakter kualitatif yang penting diamati diantaranya tekstur dan warna kalus. Pada tekstur kalus dapat diduga arah perkembangan kalus terbagi menjadi dua yaitu kalus embriogenik atau kalus non-embriogenik. Pada hasil penelitian kali ini dapat diketahui tekstur kalus pada 10 perlakuan menunjukkan tekstur yang sama yaitu *semi friable*. Kalus *semi friable* berpotensi membentuk embrio somatik, diawali dengan pembentukan struktur globular, sedangkan kalus kompak berpotensi beregenerasi membentuk tunas ataupun akar (Wijayanto, 2016). Pada minggu ke 7, kalus berubah menjadi kompak dan padat, tetapi masih dapat dipisahkan satu kalus dengan kalus lainnya (*semi friable*).

Menurut Fiahet *al.*, (2014), kalus kompak memiliki tonjolan-tonjolan nodular yang akan menjadi calon organ apabila dirangsang oleh zat pengatur tumbuh. Struktur kalus kompak biasanya lebih tahan terhadap perlakuan subkultur yang berulang.

Warna kalus menunjukkan adanya respon eksplan terhadap media dan lingkungan yang diberikan. Perubahan warna juga dipengaruhi oleh beberapa hal diantaranya hormon atau metabolit sekunder dari eksplan (Budiarto, 2015), adanya kontaminasi, dan juga adanya browning (Ibrahimet *al.*, 2012). Warna kalus pada setiap perlakuan tersebar ke dalam kategori warna P (putih), PH (Putih Kehijauan), PK (Putih Kekuningan), KP (Kuning Pucat), K (Kuning), dan C (Coklat). Perlakuan yang memiliki warna paling beragam yaitu perlakuan K1D3 dan K3D2 dengan nilai standar deviasi 20,55 dan 20,11 sedangkan perlakuan yang memiliki sebaran paling kecil yaitu perlakuan K0, K1D1, dan K3D1 dengan standar deviasi sebesar 14,45. Warna pada setiap perlakuan di dominasi dengan warna KP dengan rentang persentase 6,67%-53,33% dan C dengan rentang persentase 13,33%-40,00% sedangkan persentase yang tersisa tersebar pada warna lain. Kalus yang memiliki warna putih hingga kekuningan merupakan salah satu sebagai ciri kalus yang dapat berkembang menjadi kalus embriogenik (Yelnitis, 2012). Kalus berwarna kekuningan, putih kekuningan serta putih dan bertekstur friabel merupakan ciri kalus yang membentuk embrio somatik (Riyadi dan Tirtoboma, 2004). Warna hijau pada kalus mengindikasikan keberadaan klorofil dalam jaringan. Kalus yang memiliki persentase warna coklat tertinggi yaitu kalus dengan perlakuan K1D2 dan K3D3. Hal ini dapat disebabkan oleh perlakuan kolkisin yang bersifat toksik dan menyebabkan warna tanaman berubah menjadi coklat. Perubahan warna kuning kehijauan pada kalus embriogenik merupakan awal dari pembentukan struktur embrio somatik, akan tetapi pada beberapa kalus ada yang berubah warnanya menjadi coklat dan kemudian mati akibat perlakuan mutasi

kolkisin yang bersifat toksik atau beracun pada konsentrasi tinggi bagi tanaman (Hellyanto, 2008) namun, setelah dilakukan subkultur ke media MS BAP + NAA setiap dua minggu sekali kalus yang berwarna coklat mengalami *recovery* sehingga tumbuh kalus embriogenik, bertekstur *semi friable*, dan berwarna putih sampai kuning. Menurut Damayantiet *al.* (2011), eksplan yang telah diberlakukan mutasi kolkisin disubkultur secara rutin minimal setiap satu bulan untuk proses *recovery* dan memacu kecepatan tumbuh eksplan.

## KESIMPULAN

Keragaman morfologi variabel pengamatan pada penelitian ini termasuk dalam kategori rendah sampai sedang dengan nilai berkisar 6,51-31,34%. Karakter kualitatif tekstur pada seluruh perlakuan sama yaitu *semi friable*, sedangkan pada variabel warna kalus bervariasi dengan nilai standar deviasi berkisar 14,45-20,55. Perlakuan K0 (kontrol) memiliki nilai koefisien keragaman terendah dibandingkan perlakuan lainnya pada variabel panjang dan lebar embrio somatik. Konsentrasi kolkisin yang memiliki keragaman tinggi berdasarkan nilai koefisien keragaman pada variabel panjang dan lebar embrio somatik yaitu kolkisin 500 dan 1000 ppm dengan lama aplikasi 1 dan 3 hari.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih saya ucapkan kepada pihak Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika (BALITJESTRO) yang telah menyediakan dana, tempat, dan topik penelitian.

## DAFTAR PUSTAKA

- Badan Pusat Statistik. 2017.** Volume Impor Bawang Putih Tahun 2000-2016. Jakarta: Badan Pusat Statistik.
- Badan Pusat Statistik. 2019.** Produksi Bawang Putih 2017-2019. <https://www.bps.go.id/site/resultTab>. Diakses Pada 20 November

- 2019.
- Budiarto, R. 2015.** Induksi Kalus Dan Daya Regenerasi In Vitro Berbagai Umur Kalus Dan Kultivar Tebu Thailand (*Saccharum officinarum* L.). Skripsi. Universitas Jember.
- Crowder, L. V. 1997.** Genetika Tumbuhan (Diterjemahkan Oleh Lilik Kusdiarti). Cetakan Ke- 5. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Damayanti, F., I. Roostika, dan Samsurianto. 2011.** Induksi Keragaman Somaklonal Tanaman Kantong Semar (*Nepenthes mirabilis*) Dengan Mutagen Kimia Kolkisin Secara In Vitro. Seminar Nasional Ix Pendidikan Biologi Fkip Uns 9: 583–588.
- Dhooghe, E., K. V. Laere, T. Eeckhaut, L. Leus, dan J. V. Huylensbroeck. 2011.** Mitotic Chromosome Doubling Of Plant Tissues In Vitro. *Jurnal Plant Cell, Tissue And Organ Culture* 104 (3): 359–373.
- Fiah, R., Taryono, dan Toekidjo. 2014.** Kemampuan Regenerasi Kalus Empat Klon Tebu (*Saccharum officinarum* L.). *Jurnal Vegetalika* 3 (1): 91–101.
- Glowacka, Katarzyna, Stanisław Jeowski, dan Z. Kaczmarek. 2010.** Impact Of Colchicine Application During Callus Induction And Shoot Regeneration On Micropropagation And Polyploidisation Rates In Two *Miscanthus* Species. *Jurnal In Vitro Cell Development Biology* 46: 161–171.
- Hadi, S. K., S. Lestari, dan S. Ashari. 2014.** Keragaman dan Pendugaan Nilai Kemiripan 18 Tanaman Durian Hasil Persilangan *Durio zibethinus* dan *Durio kutejensis*. *Jurnal Produksi Tanaman* 2 (1): 79–85.
- Hartati, R., S. Suhesti, R. Yunita, dan Syafaruddin. 2018.** Induksi Mutasi Dengan Kolkisin dan Seleksi In Vitro Tebu Toleran Kekeringan Menggunakan Polyethylene Glycol. *Litri* 24 (2): 93–104.
- Haryanti, S., R. B. Hastuti, N. Setiari, dan A. Banowo. 2009.** Pengaruh Kolkisin Terhadap Pertumbuhan, Ukuran Sel Metafase Dan Kandungan Protein Tanaman Kacang Hijau (*Vigna radiata* (L) Wilczek). *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi* 10 (2): 112–120.
- Hellyanto, R. 2008.** Pengaruh Jenis Media Terhadap Embriogenesis Somatik Dua Kultivar Bawang Merah (*Allium cepa* Cv. *ascalonicum* L.). Skripsi. Institut Pertanian Bogor.
- Ibrahim, M. R. D., Sudarsono, Rubiyono, dan Syafaruddin. 2012.** Pengaruh Komposisi Media Terhadap Pembentukan Kalus Embriogenik Somatik Kopi Arabika (*Coffea arabica*). *Buletin Ristri* 3 (1): 13–22.
- Mishra, B. K., S. Pathak, A. Sharma, P. K. Trivedi, dan S. Shukla. 2010.** Modulated Gene Expression In Newly Synthesized Auto-Tetraploid Of *Papaver somniferum* L. *South African Journal Of Botany* 76 (3): 447–52.
- Pharmawati, M., dan N. L. A. J. Wistiani. 2015.** Induksi Mutasi Kromosom Dengan Kolkisin Pada Bawang Putih (*Allium sativum* L.) Kultivar 'Kesuna Bali. *Jurnal Bios Logos* 5 (1).
- Ravandi, E. G., F. Rezanejad, J. Zolala, dan E. Dehghan. 2013.** The Effects Of Chromosome-Doubling On Selected Morphological And Phytochemical Characteristics Of *Cichorium Intybus* L. *Journal Of Horticultural Science And Biotechnology* 88 (6): 701–709.
- Riyadi, I., dan Tirtoboma. 2004.** Pengaruh 2,4-D Terhadap Induksi Embrio Somatik Kopi Arabika. *Buletin Plasma Nutfah* 10 (2): 82–89.
- Saraswati, D. R., T. Rahayu, dan A. Hayati. 2017.** Kajian Pemberian Kolkisin Dengan Metode Tetes Terhadap Profil Poliploidi Tanaman Zaitun (*Olea Europaea*). *E-Jurnal Ilmiah Biosaintropis (Bioscience-Tropic)* 2: 24–29.
- Sinta, M. M., N. M. A. Wiendi, dan S. I. Aisyah. 2017.** Induksi Mutasi

Stevia Rebaudiana Dengan Perendaman Kolkisin Secara In Vitro. Jurnal Menara Perkebunan 86 (1): 1–10.

**Suratman, D., A. Priyanto, dan Setyawan. 2000.** Analisis Keragaman Genus *Ipomea* Berdasarkan Karakter Morfologi. Jurnal Biodiversitas 1: 72–79.

**Wijayanto, D. 2016.** Induksi Kalus Embriogenik Jenis Eksplan Bulbil. Skripsi. Intitut Pertanian Bogor.

**Yelnititis. 2012.** Pembentukan Kalus Remah dari Eksplan Daun Ramin (*Gonystylus bancanus* (Miq) Kurz.). Pemuliaan Tanaman Hutan 6 (3): 181–194.