

Efektivitas 2,4-D Untuk Induksi Kalus Tanaman Bawang Merah Lembah Palu (*Allium cepa* L. var. *Aggregatum*)

Effectiveness of 2,4-D for Callus Induction of Red Onion Plants Palu Valley (*Allium cepa* L. var. *Aggregatum*)

Rinaldi Sjahril*, Syatrianty A. Syaiful, Kamsinar Nasir

Departemen Budidaya Peranian, Universitas Hasanuddin, Jl. Perintis Kemerdekaan No.KM.10, Tamalanrea Indah,
Kec. Tamalanrea, Kota Makassar, Sulawesi Selatan

* E-mail: rinaldi@unhas.ac.id

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) dalam induksi kalus tanaman bawang merah Lembah Palu. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biosains dan Bioteknologi Reproduksi Tanaman, Departemen Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian/Unit Perbenihan Tanaman Teaching Industry, Makassar, dari bulan November 2022 sampai April 2023. Penelitian ini disusun menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan konsentrasi 2,4-D sebagai faktor penelitian yang terdiri dari 5 taraf yaitu 0; 0,25; 0,5; 0,75; 1,0 (mg L^{-1}) yang diulang sebanyak 3 kali. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan 2,4-D tidak memberikan pengaruh nyata antar perlakuan 2,4-D tetapi berbeda sangat nyata dengan perlakuan control. Persentase kalus terbaik yaitu konsentrasi 0,75 mg L^{-1} (66,67%) dan perlakuan dengan waktu muncul kalus terbaik adalah pada konsentrasi 1,0 mg L^{-1} (3,04 HSK). Warna kalus yang terdiri atas *Greyed-Yellow Group*, *Greyed-Orange Group* dan *White Group* dengan tekstur kompak. Namun, kalus penelitian tidak berkembang dengan baik sehingga tidak menghasilkan kalus embriogenik.

Kata Kunci: 2,4-D, bawang merah, lembah palu, in vitro, kalus embriogenik.

ABSTRACT

This research aims to determine the effect of 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) in callus induction of Shallot Lembah Palu variety. This research was conducted at the Laboratory of Plant Reproduction Bioscience and Biotechnology, Department of Agricultural Cultivation, Faculty of Agriculture/Crop Seed Unit Teaching Industry, Makassar, from November 2022 to April 2023. This study was arranged using a completely randomized design (CRD) with the concentration of 2,4-D as a factor consisting of 5 levels, i.e. 0; 0.25; 0.5; 0.75; 1.0 (mg L^{-1}) which was repeated 3 times. The results showed that 2,4-D had no significant effect between 2,4-D treatments but very significantly different with the control treatment. The treatment with the highest percentage of callus formation was the concentration of 0.75 mg L^{-1} (66.67%) and the highest callus formation time was the concentration of 1.0 mg L^{-1} (3.04 HSK). The callus color consisted of Greyed-Yellow Group, Greyed-Orange Group and White Group with compact texture. However, the callus of the study did not develop well and therefore produced no embryogenic callus.

Keywords: 2,4-D, Shallot, Lembah Palu, In vitro, Embryogenic callus.

PENDAHULUAN

Bawang merah Lembah Palu (*Allium cepa* L. var. *Aggregatum*) dikembangkan di Lembah Palu dan ditetapkan sebagai varietas unggul nasional pada tahun 2011 (Pasigai *et al.*, 2016). Bawang merah

Lembah Palu memiliki tekstur padat, rasa dan aroma kuat yang khas, dan kualitas baik bahkan pada penyimpanan lama menjadikannya bahan baku industri bawang goreng (Ansar *et al.*, 2020). Industri ini cukup potensial untuk dikembangkan,

karena mampu meningkatkan daya guna tanaman, pendapatan rumah tangga dan penyerapan tenaga kerja (Sari *et al.*, 2020).

Bawang merah Lembah Palu memiliki tingkat produktivitas yang masih rendah yaitu 4,0-4,5 ton ha⁻¹ dari potensi hasil yaitu 9,7 ton ha⁻¹, dan lebih rendah dari jenis bawang merah lainnya. Hal ini dapat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan, sistem budidaya dan pasca panen yang diterapkan, serta ketersediaan benih bermutu yang belum sesuai (Pasigai *et al.*, 2016). Menurut Maemunah *et al.* (2019), penurunan produksi Bawang Merah Lembah Palu terus mengalami penurunan yaitu 7.48 ton ha⁻¹ (2011), 4,12 ton ha⁻¹ (2012) menjadi 3,37 ton ha⁻¹ (2013), yang salah satunya diakibatkan kurangnya ketersediaan benih bermutu serta teknologi produksi yang masih terbatas. Hal ini juga dimungkinkan karena perbanyakan bawang ini hanya dapat dilakukan secara vegetatif. Melalui perbanyakan secara vegetatif, seluruh karakter yang ada induk akan diwariskan kepada keturunannya, sehingga potensi pohon induk yang baik akan berdampak baik pada tanaman yang dikembangkan (Duaja *et al.*, 2020). Namun, perbanyakan melalui umbi secara terus-menerus akan berdampak pada penurunan produktivitas tanaman dan kualitas umbi (deregenerasi) (Handayani, 2021), terutama

jika tanaman telah terinfeksi patogen yang sifatnya akan diturunkan (Pasigai *et al.*, 2016).

Salah satu metode yang baik untuk dilakukan dalam upaya penyediaan bibit bawang merah Lembah Palu adalah kultur jaringan melalui jalur embriogenesis. Menurut Lestari (2019), jalur embriogenesis somatik dapat menghasilkan bibit dari satu sel somatik sehingga bibit yang dihasilkan dapat lebih banyak. Embriogenesis somatik umumnya terjadi secara tidak langsung melalui fase kalus yang terbentuk dari sel-sel somatik yang berasal dari jaringan eksplan (Dwiyani, 2015). Kalus dapat dihasilkan di dalam media yang mengandung zat pengatur tumbuh auksin dan kadang-kadang sitokinin (Nurilmala, 2018). Penelitian yang dilakukan oleh Armila *et al.* (2014) menunjukkan bahwa aplikasi senyawa 2,4-D pada bawang merah lokal palu (*Allium ascalonicum* L.) pada konsentrasi 1,0 – 2,5 mg L⁻¹ dapat menginduksi kalus dengan tekstur kalus kompak dan intermediat. Selain itu, Kurniawan dan Widoretno (2016) mengemukakan bahwa induksi kalus pada bawang merah dapat dilakukan dengan memanfaatkan bagian cakram (basal stem) pada pemberian 2,4-D antara 0,5-5 mg L⁻¹. Namun, konsentrasi 2,4-D dalam media

perlu diperhatikan karena jika terlalu rendah kalus akan sukar terbentuk, sementara jika terlalu tinggi persentase pembentukan kalus akan menurun.

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh 2,4-Dichlorophenoxy-acetic acid dalam induksi kalus tanaman bawang merah Lembah Palu. Diharapkan penelitian ini dapat berguna untuk mengetahui metode dan prosedur perbanyakan tanaman bawang merah Lembah Palu secara embriogenesis somatik melalui fase pembentukan kalus untuk mendukung pengembangan dan penyediaan bibit berkualitas dari bawang merah Lembah Palu.

METODOLOGI

1. Tempat dan Waktu

Penelitian kultur jaringan tanaman bawang merah Lembah Palu ini dilaksanakan di Laboratorium Biosains dan Bioteknologi Reproduksi Tanaman, Departemen Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian/Unit Perbenihan Tanaman Teaching Industry, Makassar, dari bulan November 2022 sampai April 2023.

2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah peralatan standar yang digunakan di laboratorium kultur jaringan tanaman seperti misalnya

Laminar Air Flow Cabiner (LAFC), autoklaf, pH meter, *hot plate*, *magnetic stirrer*, pinset, scalpel, mata pisau scalpel, botol kultur, cawan *Petri*, gelas beaker, peralatan pecah belah, timbangan digital, kertas millimeter blok, RHS color chart, kamera Ricoh® dan alat tulis.

Bahan tanam (eksplan) yang digunakan adalah umbi bawang merah Lembah Palu dari bibit yang telah melewati masa dormansi selama 40 hari. Selain itu, digunakan bahan-bahan kimia untuk media tanam dari jenis media MS (Murashige and Skoog), alkohol 70% dan 96%. Zat pengatur tumbuh yang digunakan adalah 2,4-D. Sumber karbon menggunakan sukrosa (30 g L⁻¹) dan zat pematid yang digunakan adalah agar-agar khusus untuk kultur jaringan (7-9 g L⁻¹). Sementara bahan penunjang lainnya adalah aquades, Bayclin® (NaOCl 5,25%), fungisida Benlox®, deterjen cair Sunlight®, larutan NaOH, larutan HCl, dan plastik wrap.

3. Metode Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini disusun menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan konsentrasi 2,4 D sebagai faktor penelitian yang terdiri dari 5 taraf perlakuan yaitu 0 mg L⁻¹ (kontrol), 0,25 mg L⁻¹, 0,5 mg L⁻¹, 0,75 mg L⁻¹, dan 1,0 mg L⁻¹. Setiap perlakuan terdiri atas 4 unit botol

kultur dengan masing-masing botol berisi 2 eksplan. Perlakuan diulang sebanyak 3 kali sehingga total unit percobaan dalam penelitian ini adalah 120 unit percobaan.

4. Tahapan Pelaksanaan Penelitian

Eksplan yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksplan umbi tanaman bawang merah Lembah Palu. Sterilisasi pada eksplan dilakukan dengan mengupas kulit luar umbi bawang merah selanjutnya dibersihkan dengan menggunakan deterjen cair lalu dibilas menggunakan aquades sebanyak 3 kali. Selanjutnya, bawang merah direndam dalam larutan fungisida Benlox® (1,5 g L⁻¹) selama 12 jam kemudian dibilas menggunakan aquades hingga bersih. Proses selanjutnya dilakukan didalam LAFC dengan menggunakan sterilisasi kimia dan permukaan (api Bunsen) pada umbi. Eksplan direndam dalam larutan Bayclin® selama 5 menit dan dibilas dengan aquades steril sebanyak 3 kali. Setelah itu, umbi dicelup dalam larutan alkohol 96% dan dibakar diatas api bunsen sebanyak maksimal 3 kali. Umbi yang telah melalui tahapan sterilisasi kemudian dipindahkan pada cawan untuk dipersiapkan sebelum ditanam pada media perlakuan.

Tahapan selanjutnya adalah pembuatan media tanam yang dilakukan dengan memasukkan larutan stok media MS dari

larutan stok A, B, C, D, E, F dan vitamin. Kemudian zat pengatur tumbuh 2,4-D ditambahkan sesuai konsentrasi dalam perlakuan. Setelah itu, ditambahkan sukrosa dan aquades hingga cukup volume 1000 ml. Selanjutnya dilakukan pengukuran terhadap pH (pH terlalu asam ditambahkan NaOH, jika terlalu basa ditambahkan HCl) hingga diperoleh pH 5,6-5,7. Agar-agar kemudian dimasukkan kedalam larutan media MS yang telah dibuat sebelum dipanaskan. Larutan dipanaskan menggunakan hot plate hingga larutan menjadi bening. Selanjutnya, larutan dituang ke dalam masing-masing botol-botol kultur dan ditutup rapat dengan penutup botol sebelum disterilisasi di dalam autoklaf (suhu 121°C, tekanan 1 atm selama 15 menit)

Eksplan telah disterilisasi dikupas hingga lapisan umbi yang terlihat berwarna putih atau putih kehijauan (lapisan umbi tidak lagi memiliki gradasi warna keunguan). Selanjutnya eksplan dipotong menggunakan scalpel, ukuran eksplan yang digunakan penelitian ini yaitu dengan panjang 5 mm dan lebar 4-5 mm yang diukur menggunakan kertas millimeter blok. Setelah itu, melakukan perlakuan pada ekplan dengan mengiris eksplan (sekitar sepertiga dari besar eksplan, mengenai hingga bakal tunas) sebanyak 3 kali. Semua alat yang akan

digunakan dalam penanaman sebelumnya telah disterilisasi dengan cara dicelupkan ke dalam a nada 96% kemudian dibakar pada api a nad. Kemudian eksplan dipindahkan pada botol kultur berisi media perlakuan segar menggunakan pinset. Botol kultur kemudian ditutup dan direkatkan lagi dengan “ a nada wrap”.

5. Analisis Data

Data hasil pengamatan yang diperoleh terdiri atas data kualitatif dan kuantitatif. Data kualitatif dianalisis dengan analisis deskriptif. Sementara itu, data kuantitatif dianalisis dengan menggunakan analisis sidik ragam. Apabila terdapat pengaruh nyata atau sangat nyata maka dilakukan uji lanjut untuk membedakan rerata antar perlakuan dengan menggunakan uji beda

nyata jujur (BNJ) dengan taraf kepercayaan 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Persentase Kalus

Analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi 2,4-D berpengaruh sangat nyata terhadap persentase terbentuknya kalus pada tanaman bawang merah Lembah Palu. Hasil uji BNJ 0,05 pada Tabel 1 menunjukkan bahwa rata-rata persentase kalus terbaik adalah pada perlakuan 2,4-D dengan konsentrasi 0,75 mg L⁻¹ (d3) dengan rata-rata persentase pembentukan kalus tertinggi yaitu 66,67% dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan 2,4-D lainnya. Tetapi, perlakuan 2,4-D berbeda signifikan dengan perlakuan pada media kontrol tanpa ZPT.

Tabel 1. Rata-rata persentase pembentukan kalus (%)

Perlakuan	Rata-rata (%)	NP BNJ 0,05
Kontrol (0 mg L ⁻¹)	0,00 ^a	
d1 (0,25 mg L ⁻¹)	54,17 ^b	
d2 (0,5 mg L ⁻¹)	54,17 ^b	31,27
d3(0,75 mg L ⁻¹)	66,67 ^b	
d4 (1,0 mg L ⁻¹)	45,83 ^b	

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama berarti berbeda tidak nyata pada uji BNJ 0,05.

2. Waktu Muncul Kalus

Analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi 2,4-D berpengaruh nyata terhadap waktu muncul kalus. Hasil

uji BNJ 0.05 pada Tabel 2 menunjukkan bahwa perlakuan 2,4-D dengan konsentrasi 1,0 mg L⁻¹ (d4) menghasilkan rata-rata waktu muncul kalus terbaik yaitu 3,04 HSK

yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan 2,4-D lainnya. Selain itu, diketahui juga bahwa pada media kontrol tanpa ZPT 2,4-D tidak dapat menstimulasi pembentukan kalus.

Tabel 2. Rata-rata waktu muncul kalus (HSK)

Perlakuan	Rata-rata waktu muncul kalus (HSK)	NP BNJ 0,05
Kontrol (0 mg L ⁻¹)	0,00 ^a	
d1 (0,25 mg L ⁻¹)	3,25 ^b	
d2 (0,5 mg L ⁻¹)	4,25 ^b	2,47
d3(0,75 mg L ⁻¹)	4,63 ^b	
d4 (1,0 mg L ⁻¹)	3,04 ^b	

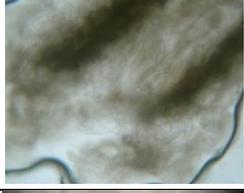
Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama berarti berbeda tidak nyata pada uji BNJ 0,05.

3. Standar Tekstur dan Warna Kalus

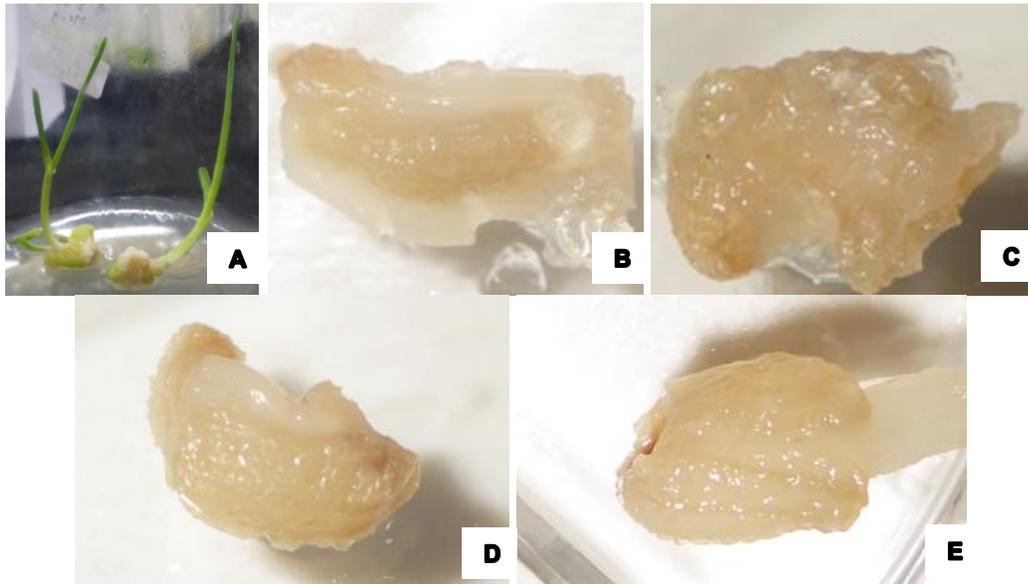
Indikator bentuk, warna dan tekstur kalus merupakan indikator penting dalam

menggambarkan kualitas sel-sel kalus sehingga dapat diketahui tingkat keaktifan pembelahan sel- sel yang terjadi.

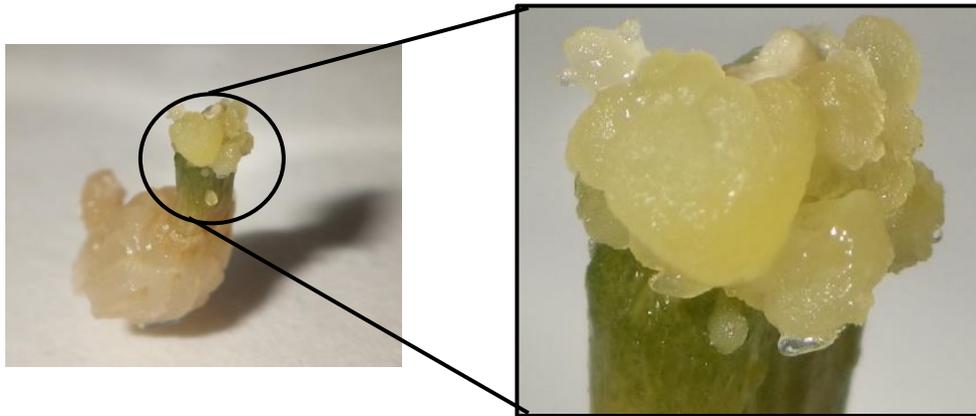
Tabel 3. Struktur dan warna kalus pada berbagai konsentrasi 2,4-D

Perlakuan	Tekstur	Warna	Pengamatan mikroskop
d1	Kompak	<i>Greyed Yellow Group</i>	
d2	Kompak	<i>Greyed-Orange Group</i>	
d3	Kompak	<i>White Group</i>	
d4	Kompak	<i>White Group</i>	

Sumber: Data primer, 2023.



Gambar 1. Eksplan umbi: a) Kontrol; b) d1 ($0,25 \text{ mg L}^{-1}$); c) d2 ($0,5 \text{ mg L}^{-1}$); d) d3 ($0,75 \text{ mg L}^{-1}$); e) d4 ($1,0 \text{ mg L}^{-1}$)

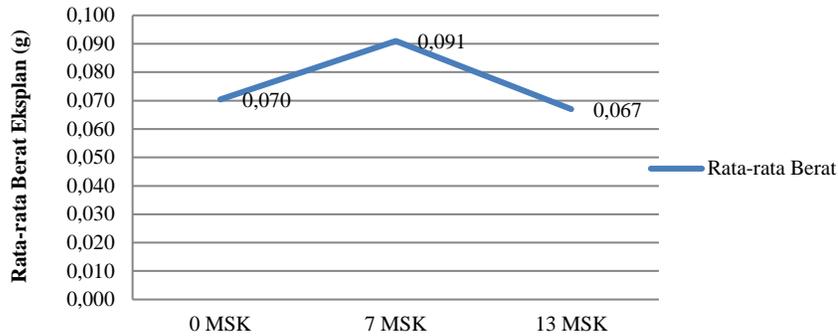


Gambar 2. Kalus yang terbentuk dari pemanjangan tunas pada eksplan.

4. Berat Eksplan

Hasil pengamatan berat kalus pada Gambar 3 menunjukkan bahwa terjadi perubahan pada berat eksplan setelah perlakuan pada awal penanaman eksplan (0

MSK), 7 MSK dan 13 MSK. Massa eksplan meningkat setelah penanaman tetapi kemudian mengalami penurunan pada akhir pengamatan.



Gambar 3. Grafik rata-rata berat eksplan (g).

5. Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan 2,4-D memberikan pengaruh nyata terhadap pembentukan kalus tanaman bawang Merah Lembah Palu. Dalam hal ini, konsentrasi 2,4-D yang memberikan pengaruh terbaik pada waktu muncul kalus adalah pada perlakuan 1,0 mg L⁻¹ (3,04 HSK) dan pengaruh terendah pada konsentrasi 0,75 mg L⁻¹ (4,63 HSK). Pada persentase terbentuknya kalus, pengaruh terbaik dihasilkan pada 2,4-D konsentrasi 0,75 mg L⁻¹ (66,67%) dan pengaruh terendah pada 2,4-D konsentrasi 1,0 mg L⁻¹ (45,83%). Sementara itu, perlakuan kontrol tidak membentuk kalus melainkan membentuk tunas.

Data yang diperoleh membuktikan bahwa 2,4-D dapat menstimulasi pembentukan kalus pada tanaman bawang merah Lembah Palu. Keadaan ini terjadi karena 2,4-D termasuk dalam kelompok hormon auksin yang memiliki fungsi dalam merespon

pembelahan dan pembesaran sel yang dapat menginduksi pembentukan kalus. Hal ini sesuai dengan pendapat Silalahi (2015), bahwa auksin berfungsi menginduksi pembelahan sel, pemanjangan sel, apikal dominansi, pembentukan akar adventif, dan embriogenesis somatis. Selain itu, pelukaan (*injury*) pada eksplan turut membantu pembentukan kalus. Ikeuchi *et al.* (2013), menjelaskan dalam ulasannya bahwa kalus dapat diinduksi dengan pelukaan disertai adanya penambahan auksin. Dalam hal tersebut, analisis dari pelukaan pada hipokotil *Arabidopsis* menunjukkan rangsangan ekspresi gen *WIND1* (*Wound Induced Dedifferentiation1*), *WIND2*, *WIND3* dan *WIND4* pada area luka yang meningkatkan produksi sitokinin. Sementara itu, pelukaan tersebut menyebabkan adanya penghambatan translokasi auksin sehingga terdapat sisi hipokotil yang berauksin tinggi dan rendah. Dari penjelasan ini dapat disimpulkan bahwa pelukaan pada eksplan

akan menstimulasi peningkatan sitokinin, sementara penambahan auksin eksogen akan meningkatkan konsentrasi auksin disekitar luka yang kemudian memungkinkan keadaan dimana rasio sitokinin dan auksin sama sehingga terbentuk kalus. Hal ini selaras dengan pendapat Pandey dan Sinha (2006), bahwa pembentukan kalus terjadi apabila rasio sitokinin dan auksin dalam keadaan setimbang.

Berdasarkan hasil yang diperoleh diketahui juga bahwa konsentrasi 2,4-D tidak signifikan berbeda pada rata-rata waktu pembentukan kalus. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian 2,4-D cukup baik dalam menginduksi dan mempercepat laju pembentukan kalus (3,04 - 4,63 HSK). Menurut Lizawati (2012), lama atau tidaknya eksplan membentuk kalus tergantung dari bagian tanaman yang dipakai sebagai eksplan serta komposisi media induksi yang digunakan. Selain itu, 2,4-D dapat memacu pembentukan kalus karena termasuk auksin kuat, hal tersebut yang kemudian mempengaruhi peningkatan terhadap respon pemanjangan dan pertumbuhan pada sel tanaman (Waryastuti *et al.*, 2017).

Dari persentase rata-rata kalus yang dihasilkan, diketahui bahwa terjadi peningkatan persentase dengan semakin

tinggi konsentrasi yang diberikan. Namun, pada konsentrasi tertinggi dalam perlakuan ini ($1,0 \text{ mg L}^{-1}$) terjadi penurunan persentase rata-rata pembentukan kalus. Hal ini diduga karena senyawa 2,4-D memiliki sifat racun sehingga pada konsentrasi tinggi dapat menghambat pertumbuhan jika melebihi batas toleransi tanaman (Fitroh *et al.*, 2018). Menurut Özkul *et al.* (2016), setiap peningkatan konsentrasi 2,4-D akan menurunkan laju pembelahan sel karena efek mitodepresif dan sitotoksik yang dimiliki dengan merangsang pembelahan sel yang dipercepat, yang dapat merusak sel. Hal ini juga sesuai dengan pendapat Carsono *et al.* (2021), bahwa konsentrasi 2,4-D yang tinggi akan menurunkan indeks mitosis, dan pemberiannya yang berlebihan akan menurunkan laju perkembangan kalus karena totipotensi *in vitro* dipengaruhi oleh gen yang mengendalikan tingkat hormon dalam sel dan ambang batas sensitivitas terhadap hormon.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kalus yang terbentuk dari perlakuan 2,4-D menghasilkan kalus dengan tekstur kompak. Adapun warna kalus yang dihasilkan tidak jauh berbeda antar perlakuan. Kalus yang dihasilkan berasal kelompok warna *Greyed-Yellow Group*, *Greyed-Orange Group* dan *White Group*.

Kalus yang dihasilkan dalam penelitian ini tidak berstruktur remah (mudah terpisah) dengan warna kalus dominan yaitu putih dan putih kekuningan dan terlihat sangat berair. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun warna yang dihasilkan dari kalus ini cukup baik, namun struktur kalus menunjukkan bahwa aktivitas sel-sel telah berhenti dan menjadi non embrionik. Menurut Lizawati (2012), kalus yang berair dan memiliki struktur kompak dan lembek telah kehilangan kemampuan pembelahan sel.

Kalus dengan ciri berair mencirikan penurunan metabolisme sel tanaman. Hal ini sesuai dengan pernyataan Suhartanto *et al.* (2022), bahwa kalus berair mengindikasikan kandungan air dalam sel yang berlebihan, sehingga menurunkan aktivitas metabolisme dan mengganggu aktivitas pembelahan sel. Kondisi ini kemungkinan dikarenakan pengaruh dari kandungan air pada tanaman bawang merah Lembah Palu yang tinggi, lama proses sterilisasi eksplan dan aktivitas senyawa auksin 2,4-D yang meningkatkan tekanan osmotik. Menurut Mahadi *et al.* (2021), penambahan 2,4-D pada media dapat meningkatkan sintesis protein, permeabilitas sel terhadap air, plastisitas dan tekanan osmotik, serta pengembangan dinding sel dan menyebabkan tekanan dinding sel berkurang.

Dalam perkembangannya, kalus terbentuk dari lapisan permukaan eksplan yang mengalami perubahan warna dan struktur menjadi semakin bening. Setelah itu mulai terbentuk gumpalan-gumpalan pada permukaan eksplan yang menunjukkan terjadinya pembentukan kalus (4-10 HSK). Akan tetapi, setelah 4 MSK, kalus tidak lagi menunjukkan perkembangan maupun memperbanyak sel (tidak terlihat adanya perluasan area struktur kalus) hingga akhir penelitian. Selain itu, seiring dengan semakin tuanya umur eksplan setelah perlakuan 2,4-D, kalus mulai memperlihatkan warna kecoklatan yang menunjukkan terjadinya browning pada kalus sehingga menghambat pertumbuhan sel. Menurut Admojo dan Inrianto (2016), pencoklatan atau *Browning* umumnya dikarenakan adanya akumulasi senyawa fenolik pada eksplan yang dilukai, yang biasanya dikarenakan dari aktivitas enzim *Polyphenol oxidase*.

Selain itu, hasil pengamatan terhadap struktur kalus juga mengindikasikan tidak terjadi dediferensiasi yang sempurna pada jaringan eksplan. Hal ini didukung oleh pengamatan struktur jaringan dengan menggunakan mikroskop (Tabel 3) yang menunjukkan bahwa lapisan jaringan eksplan tidak mengalami dediferensiasi yang

sempurna. Dalam hal ini, sel-sel terlihat masih didominasi oleh sel dari jaringan umbi bawang yang digunakan. Rasud dan Bustaman (2020), menjelaskan bahwa senyawa 2,4-D mendorong pembelahan sel-sel yang telah mengalami diferensiasi untuk kembali menjadi terdediferensiasi dan memacu terbentuknya massa sel atau kalus. Menurut Feher (2019), dediferensiasi umumnya dikaitkan dengan peningkatan potensi perkembangan, yang mana berupa proses sel-sel dewasa atau terspesialisasi kehilangan karakternya dan terproliferasi. Dari hal tersebut dapat disimpulkan bahwa dediferensiasi pada eksplan terhambat sehingga tidak menunjukkan penambahan area berkalus.

Hal yang berbeda terjadi pada eksplan yang mengalami pemanjangan tunas (Gambar 2.). Kalus yang terbentuk memiliki struktur remah dengan warna putih hingga kuning yang menunjukkan potensi pembentukan dan struktur kalus yang baik. Warna kalus dengan pigmen putih dan kuning mengindikasikan pertumbuhan kalus yang baik (Nasution dan Nasution, 2022). Oleh karena itu, induksi kalus bawang merah Lembah Palu kemungkinan lebih baik dilakukan dengan menggunakan pucuk daun atau tunas yang tumbuh setelah perlakuan *in vitro* (telah melalui tahapan sterilisasi).

Adanya respon yang berbeda dalam penelitian ini dapat terjadi karena selain zat pengatur tumbuh, bagian tanaman atau sumber eksplan yang digunakan juga dapat mempengaruhi respon pertumbuhan dan induksi kalus tanaman. Hal ini sesuai dengan pendapat Zulkarnain *et al.* (2013), bahwa respon eksplan dapat berbeda dan sangat tergantung pada jenis eksplan yang digunakan, kondisi lingkungan, komposisi media komposisi media, dan keberadaan zat pengatur tumbuh pengatur tumbuh (terutama auksin dan sitokinin) dalam media kultur. Pengaruh dari dua atau lebih dari faktor-faktor tersebut kadang menjadi faktor kritis pertumbuhan eksplan.

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa rata-rata berat eksplan berkalus mengalami peningkatan setelah 7 MSK, tetapi semakin menurun seiring bertambahnya umur eksplan. Hal ini dimungkinkan karena perlakuan 2,4-D menstimulasi pertumbuhan secara besar-besaran sehingga eksplan mengalami penambahan berat. Akan tetapi, terjadi penurunan berat yang dimungkinkan perlakuan 2,4-D menyebabkan kerusakan pada sel-sel, menghasilkan radikal bebas sehingga tanaman memerlukan usaha besar untuk mendetoksifikasi radikal bebas yang dihasilkan. Menurut Australian Herbicide Resistance Initiative (2016), senyawa 2,4-D

bekerja dalam tiga tahapan yaitu merangsang pertumbuhan tanaman secara berlebihan, menutup stomata dan menghentikan fotosintesis, yang kemudian berefek pada kematian tanaman karena bekerja keras untuk mendetoksifikasi radikal bebas yang berlebihan.

Selain itu, perubahan fluktuasi berat eksplan juga dimungkinkan karena rasio auksin dan sitokinin eksogen dan endogen tidak lagi berada pada keadaan setimbang untuk menstimulasi pembentukan kalus dan proliferasi sel. Dalam hal ini, auksin merespon penutupan luka sehingga gen untuk stimulasi dediferensiasi sel tidak diaktifkan. Hal ini sesuai dengan pendapat Ikeuchi *et al.* (2013), bahwa ketika terjadi pelukaan pada tanaman, disamping mengaktifkan gen WIND1, akumulasi auksin (dalam keadaan tinggi atau rendah) mengaktifkan produksi gen ANACO71 dan RAP2 untuk menghentikan proliferasi sel untuk menutup luka. Sehingga respon terhadap realisasi fungsi dan sifat auksin menurun. Menurut Feher (2019), tanaman memiliki respon perkembangan regenerasi melalui pembentukan jalur untuk menutup luka dan/atau mengganti bagian atau organ yang hilang sebagai adaptasi dalam mempertahankan kelangsungan hidupnya.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa Pemberian senyawa 2,4-D dapat merangsang pembentukan kalus pada tanaman bawang merah Lembah Palu yaitu persentase kalus terbaik pada konsentrasi 0,75 mg L⁻¹ (66,67%) dan waktu muncul kalus terbaik adalah pada konsentrasi 1,0 mg L⁻¹ (3,04 HSK). Warna kalus yang dihasilkan adalah *Greyed-Yellow Group*, *Greyed-Orange Group* dan *White Group* dengan tekstur kompak. Namun, perkembangan kalus pada perlakuan tidak terjadi dengan baik sehingga tidak menghasilkan kalus embriogenik. Oleh karena itu, penelitian lebih lanjut sebaiknya menggunakan hormon 2,4- dengan konsentrasi berbeda atau dengan jenis hormon yang berbeda. Selain itu, penulis menyarankan untuk menggunakan tunas bagian pucuk daun yang telah steril sebagai eksplan untuk induksi kalus.

DAFTAR PUSTAKA

- Ansar, M., Wahyudi, I. dan Bahrudin, B. 2016. Growth and Yield of Shallot Lembah Palu Variety on Different Direction and Form Of Seedbeds Growing on Dry Land. *Agroland: The Agriculture Science Journal*. 3(1): 14-21
- Armila, N. K. P., Bustami, M. U. dan Basri, Z. 2014. Sterilisasi dan Induksi Kalus Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.) Lokal Palu secara

- In Vitro. *e-J. Agrotekbis*. 2(2): 129-137.
- Australian Herbicide Resistance Initiative. 2016. How stuff works: 2,4-D, free radicals and monkeys. Australian Herbicide Resistance Initiative UWA School of Agriculture and Environment, The University of Western, Australia. [Online]. <https://www.ahri.uwa.edu.au/how-stuff-works-24d/>
- Carsono, N., Juwendah, E., Liberty, Sari, S., Damayanti, F. dan Rachmadi M. 2021. Optimize 2,4-D Concentration and Callus Induction Time Enhance Callus Proliferation and Plant Regeneration of Three Rice Genotypes. *Biodiversitas*. 22(7): 2555-2560.
- Duaja, M. D., Kartika, E., dan Gusniwati. 2020. *Pembiakan Tanaman Secara Vegetatif*. Fakultas Ekonomi dan Bisnis Universitas Jambi: Jambi.
- Dwiyani, Rindang. 2015. *Kultur Jaringan Tanaman*. Pelawa Sari "Percetakan & Penerbit": Bali.
- Feher, A. 2019. Kalus, Dediferensiasi, Totipotensi, Embriogenesis Somatik: Apa arti Istilah ini di era Biologi Tumbuhan Molekuler?. *Ilmu Tanaman Depan*. 10: 536.
- Fitroh, A. I., Dwiyani, R., Wijaya, I. K. A., Yuswanti, H. 2018. Pengaruh 2,4-D terhadap Induksi Kalus Daun Stroberi (*Fragaria* sp.) dengan Media Alternatif Nutrisi Hidroponik AB Mix. *E-Jurnal Agroteknologi Tropika*. 7 (3): 304-315
- Ikeuchi, M., Sugimoto, K. Dan Iwase, A. 2013. Review: Plant Callus: Mechanisms of Induction and Repression. *The Plant Cell*. 25: 3159-3173.
- Kurniawan, A. D. dan Widoretno, W. 2016. Regenerasi In Vitro Tanaman Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.). *J. Biotropika*. 4(1): 1-4.
- Lestari, Endang G. 2011. Peranan Zat Pengatur Tumbuh dalam Perbanyak Tanaman melalui Kultur Jaringan. *Jurnal AgroBiogen*. 7(1):63-68.
- Lizawati. 2012. Induksi Kalus Emriogenik dari Eksplan Tunas Apikal Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) dengan Penggunaan 2,4-D dan TDZ. *Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian Unniversitas Jambi*. 1 (2): 75-87.
- Nasution, N. H. dan Nasution, I. W. 2022. *Induksi Kalus Manggis (Garcinia mangostana L.): Sebuah Teknik dalam Kultur Jaringan Tanaman*. Penerbit NEM: Bojong.
- Nurilmala, F. 2018. *Buku Ajar Kultur Jaringan Tanaman*. Universitas Nusa Bangsa: Bogor.
- Maemunah, Yusuf, R., Samudin, S., Yusran, Hawalina dan Rini, N.S. 2019. Initiation of onion callus (*allium wakegiaraki*) varieties of Lembah Palu at various light intensities. *IOP Conference Series Earth and Environmental Science* 361(1):012028.
- Mahadi, I., Wulandari, S., Safii, W., dan Sayuti, I. 2021. Kultur Suspensi Sel Tanaman Gajah Beranak (*Goniothalamus tapis* Miq) Terhadap Kandungan Zat

- Goniotalamin. *Jurnal Agro*. 8(2): 247-261.
- Özkul, M., Özel, Ç.A., Yüzbaşıoğlu, D. dan Ünal, F. 2016. Does 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) Induce Genotoxic Effects in Tissue Cultured *Allium* Roots?. *Cytotechnology*. 68: 2395–2405
- Pasigai, M. A., Thata, A. R., Nasir, B., Lasmini, S. A., Maemunah, dan Bahrudin. 2016. *Teknologi Budidaya Bawang Merah Varietas Lembah Palu*. UNTAD Press: Palu.
- Rasud, Y. dan Bustaman. 2020. Induksi Kalus secara In Vitro dari Daun Cengkeh (*Syzigium aromaticum* L.) dalam Media dengan Berbagai Konsentrasi Auksin. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI)*. 25(1): 67-72
- Silalahi, Marina. 2015. *Bahan Ajar: Kultur Jaringan*. UKI Press: Jakarta.
- Suhartanto, B., Astutik, M., Umami, N., Suseno, N. dan Haq, M. S. 2022. The Effect of Explants and Light Conditions on Callus Induction of Srikandi Putih Maize (*Zae mays* L.). IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science. 1001 012006: 1-5.
- Waryastuti, D. E., Setyobudi, L. Dan Wardiyati, T. 2017. Pengaruh Tingkat Konsentrasi 2,4-D dan BAP Pada Media MS Terhadap Induksi Kalus Embriogenik Callus Induction of Java Turmeric (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). *Jurnal Produksi Tanaman*. 5(1): 140-149
- Zulkarnain, Neliyati dan Lizawati. 2013. Callus Proliferation from Immature Leaf Explants of Durian (*Durio zibethinus* Murr. cv. Selat) with the Addition of Picloram and BAP. *J. Hort. Indonesia*. 4(3): 107-114.