

INDUKSI POLIPLIIDI DENGAN KOLKISINA PADA KULTUR MERISTEM BATANG BAWANG WAKEGI (*Allium x wakegi* Araki)

Mita Setyowati¹, Endang Sulistyaningsih², Aziz Purwantoro²

ABSTRACT

Wakegi onions can not develop flowers. Therefore, no seeds can be obtained. As a result, wakegi onion had a narrow genetic diversity. This study aimed to found the optimum concentration for induction of polyploidy by colchicine in the wakegi onion and got poliploid of wakegi onion plants. The experiment was conducted at the Faculty of Agriculture, Gadjah Mada University on June 2011 until January 2013. Experimental design used was factorial Completely Randomized Block Design 2 factors with 4 replications. The first factor was the cultivar of 'Lembah Palu', 'Palasa', and 'Sumenep'. The second factor was the concentrations of colchicine were 0 gL⁻¹, 0.5 gL⁻¹, 1 gL⁻¹, and 1.5 gL⁻¹ with the long incubation period of three days. Observations were made at ages 2 to 8 weeks after planting in the bottle for the growth and morphological parameters and the cytology.

The results showed that chromosome number $2n = 32$ (tetraploid) obtained at 'Palasa' with 0.5 and 1.5 gL⁻¹ colchicine treatment and that in 'Sumenep' with 1 gL⁻¹ colchicine treatment. Poliploid plants mentioned above had a larger size of cell, stomata and epidermis, and stomata density less than untreated plants.

Keywords: *wakegi onion, polyploidy, colchicine, invitro*

INTISARI

Bawang wakegi tidak dapat berbunga sehingga tidak menghasilkan biji. Akibatnya, bawang wakegi memiliki keragaman genetik yang sempit. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan konsentrasi kolkisina optimum untuk induksi poliploidi bawang wakegi dan mendapatkan tanaman bawang wakegi poliploid. Penelitian dilaksanakan di Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada pada bulan Juni 2011 sampai Januari 2013. Rancangan percobaan yang digunakan adalah RAKL faktorial 2 faktor dengan 4 ulangan. Faktor pertama adalah kultivar yaitu 'Lembah Palu', 'Palasa', dan 'Sumenep'. Faktor kedua adalah konsentrasi kolkisina yaitu 0 g.L⁻¹, 0,5 g.L⁻¹; 1 g.L⁻¹; dan 1,5 g.L⁻¹ dengan lama inkubasi tiga hari. Pengamatan dilakukan pada umur 2 hingga 8 minggu setelah tanam di dalam botol untuk parameter pertumbuhan dan morfologi serta sitologinya.

¹ Mahasiswa Pascasarjana Fakultas Pertanian UGM (setyowatimita@yahoo.com)

² Staf Pengajar Fakultas Pertanian UGM, Yogyakarta

Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah kromosom $2n=32$ (tetraploid) diperoleh pada kultivar 'Palasa' dengan perlakuan kolkisina 0,5 dan 1,5 g.L⁻¹ serta kultivar 'Sumenep' dengan perlakuan kolkisina 1 g.L⁻¹. Tanaman poliploid tersebut diatas memiliki ukuran sel, ukuran stomata dan epidermis lebih besar serta densitas stomata lebih sedikit dibandingkan tanaman kontrol.

Kata kunci : bawang wakegi, poliploidi, kolkisina, invitro

PENDAHULUAN

Bawang merah (*Allium cepa* L. Kelompok Aggegatum) dan wakegi (*Allium ×wakegi* Araki) dijumpai di pulau-pulau utama Indonesia, Jepang, Korea, Taiwan, Malaysia, Thailand dan Banglades (Arifin dan Okubo, 1996). Di Indonesia, budidaya kedua tanaman ini tidak membedakan cara, waktu, dan tempat penanamannya. Berdasarkan hasil penelitian Arifin dan Okubo (1996) terhadap 165 klon bawang merah Indonesia, 26 klon yang tersebar di Sumatera, Jawa Barat dan di Sulawesi diindikasikan sebagai bawang wakegi. Sebagian besar orang masih menganggap bawang wakegi sebagai bagian dari varietas bawang merah dengan alasan kemiripan kemampuan membentuk anakan, ukuran umbi yang kecil dan warnanya merah keputihan. Masyarakat Indonesia mengenal bawang merah sebagai bumbu masak dan bawang wakegi sebagai bawang goreng.

Bawang wakegi dapat ditemukan di wilayah Indonesia antara lain Sibolangit, Cikareo, Girimulyo, Ciledog, Alam Indah, Wonokrio, dan Panundaan berasal dari Jawa Barat; Tongging berasal dari Sumatera; Saruran dan Baraka berasal dari Sulawesi Selatan; Tonsewer berasal dari Sulawesi Utara; dan Wataes berasal dari Sumatera Selatan (Arifin *et al.*, 2000). Kultivar bawang wakegi di Indonesia adalah 'Sumenep', 'Lembah Palu', dan 'Palasa' (Endang, 2008). 'Sumenep' merupakan kultivar wakegi yang berasal dari Madura (Permadi, 1995; Suriana, 2011), sedangkan 'Lembah Palu' dan 'Palasa' berasal dari Sulawesi (Limbongan dan Maskar, 2003;; Haryanti dan Hayati, 2011).

Bawang merah memiliki ciri dapat berbunga di dataran rendah atau dataran tinggi. Sebaliknya, bawang wakegi di Indonesia tidak dapat berbunga. Bawang wakegi merupakan hasil persilangan interspesifik alami antara bawang daun (*Allium fistulosum* L.) dengan bawang merah (Tashiro, 1980, 1981, 1984). Hal tersebut diduga menyebabkan kegagalan pembungaan. Sterilitas yang komplet pada tanaman ini menjadi pembatas terjadinya persilangan dengan spesies anggota *Allium* lainnya (Tashiro 1984). Akibatnya, bawang wakegi memiliki keragaman genetik yang sempit. Hal itu dapat menurunkan produksi bawang wakegi apabila ditanam secara terus-menerus menggunakan umbinya. Kontinuitas penanaman umbi suatu kultivar pada suatu lahan dapat menurunkan produktivitasnya karena terbawanya bibit hama dan penyakit di dalam umbi dalam setiap penanaman sehingga menurunkan kualitas benih umbi (Endang, 2004).

Tanaman yang tidak dapat berbunga dapat ditingkatkan keragaman genetiknya dengan mutasi buatan, teknik transgenik, fusi protoplasma, atau penggandaan jumlah kromosom. Teknik yang paling mudah untuk meningkatkan keragaman genetik adalah penggandaan kromosom. Salah satu cara untuk menggandakan jumlah kromosom adalah menggunakan kolkisina.

Kolkisina telah banyak digunakan sebagai bahan pengganda kromosom. Sebagaimana dilaporkan Indarmanah (2006), perlakuan meristem apikal bawang daun dengan induksi kolkisina 1 g.L⁻¹ selama tiga hari pada medium MS diperoleh kromosom tetraploid. Tashiro *et al.* (1983) juga telah berhasil mendapatkan tanaman bawang wakegi tetraploid melalui kultur meristem batang bawang wakegi hasil persilangan buatan antara bawang daun dan bawang merah pada medium MS dasar yang mengandung kolkisina 1 g.L⁻¹ selama empat hari. Adaniya dan Tamaki (1991) mendapatkan 38 tanaman diploid, 38 tanaman tetraploid dan sisanya adalah kimera dari 537 kultur shoot apices *Allium xwakegi* Araki kultivar Shunegi yang diberi perlakuan 2 g.L⁻¹ kolkisina selama tiga hari pada media MS.

Song *et al.* (1997) juga menggunakan perlakuan 1 g.L-1 dan 2 g.L-1 kolkisina dalam larutan medium BDS selama 48 jam dan 72 jam pada kalus F1 bawang wakegi hasil hibridisasi menghasilkan planlet tetraploid terbanyak.

Penelitian induksi poliploid tersebut di atas dilakukan pada jenis-jenis *Allium* dan bawang wakegi hasil persilangan buatan (hibridisasi) antara bawang daun dan bawang merah, serta kultivar bawang wakegi yang berasal dari Jepang (kultivar 'Shunegi'). Pada penelitian ini akan dilakukan induksi poliploid pada kultivar bawang wakegi yang berasal dari Indonesia dengan penambahan kolkisina ke dalam media *in vitro*, diharapkan mampu menghasilkan poliploid dan terutama tetraploid. Dari bawang wakegi poliploid diharapkan akan diperoleh tanaman tetraploid yang akan memiliki karakteristik gigas, seperti membesarnya ukuran sel-sel, termasuk sel stomata dan meningkatnya kandungan metabolit sekunder (Liu dan Gao, 2007; Gao *et al.*, 1996; Tashiro *et al.*, 2006).

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Kebun Percobaan Fakultas Pertanian UGM Banguntapan, Bantul, Yogyakarta, dari bulan Juni 2011 untuk mendapatkan bahan tanam meristem batang tanaman bawang wakegi. Penelitian di Laboratorium Kultur Jaringan Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian UGM.

Bahan penelitian terdiri dari tiga kultivar bawang wakegi yaitu 'Sumenep', 'Palasa', dan 'Lembah Palu'. Bawang Daun kultivar Fragrant dan bawang merah kultivar Tiron digunakan sebagai pembanding kromosom tanaman kontrol bawang wakegi. Sebagai bahan pengganda kromosom digunakan senyawa kolkisina (C₂₂H₂₆O₆N). Media Murashige & Skoog (MS) digunakan sebagai media tanam secara *in vitro*, sedangkan untuk penghitungan jumlah kromosom digunakan pewarna *leucobasic fuchsine*.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pot pembibitan, polibag, bak pasir dalam rumah plastik, alat tanam, gembor, ember, gelas

beker, gelas ukur, botol kultur, pinset, pisau tanam (*scalpel*), gunting, kertas aluminium, autoklaf, laminar air flow, timbangan analitik, pipet dan mikropipet, pengaduk magnetik dan pemanas listrik, ruang inkubasi, jarum preparat, penggaris, oven, lemari pendingin, mikroskop, penggaris, BWD dan Optilab tipe advance.

Penelitian dilaksanakan secara faktorial yang dirancang secara acak lengkap (RAKL Faktorial 4×3), terdiri dari dua faktor yaitu kultivar dan konsentrasi kolkisina. Konsentrasi kolkisina yang digunakan terdiri dari empat taraf, yaitu 0 g.L⁻¹, 0,5 g.L⁻¹; 1 g.L⁻¹; dan 1,5 g.L⁻¹ dengan lama inkubasi tiga hari. Adapun kultivar yang digunakan terdiri dari tiga macam, yaitu 'Lembah Palu', 'Palasa', dan 'Sumenep'. Masing-masing kombinasi diulang empat kali. Setiap ulangan terdiri dari tiga tanaman sampel.

Sebelum penelitian utama dilaksanakan, umbi bawang wakegi ditumbuhkan pada bak pasir di dalam rumah plastik sampai umbinya pecah/tumbuh menjadi daun. Selanjutnya bibit tersebut dicabut dan bersihkan, lalu dibawa ke Laboratorium Kultur Jaringan untuk dilakukan penanaman meristem batang secara *in vitro*.

a. Pembuatan Medium Murashige & Skoog (MS)

Pembuatan medium Murashige & Skoog (MS) diawali dengan pembuatan stok larutan nutrisi makro, nutrisi mikro, besi, vitamin dan myoinositol untuk satu liter medium (Lampiran 1). Untuk pembuatan satu liter medium MS, diambil dengan pipet 10 ml stok nutrisi makro, 5 ml stok nutrisi mikro, 5 ml stok besi, 4 ml stok vitamin, dan 10 ml stok myoinositol. Semua stok tersebut dicampur dengan sukrosa 30 g, agarosa 8 g dan akuades hingga volume satu liter di dalam gelas beker. Setelah diukur pH hingga mencapai 5,7-5,8 (apabila terlalu asam ditambahkan NaOH, apabila terlalu basa ditambahkan HCl), selanjutnya larutan dipanaskan serta diaduk di atas pengaduk magnetik dan pemanas listrik. Setelah tercampur homogen dan masak, larutan medium MS tersebut dituang ke dalam botol kultur dan

disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 120°C dan tekanan 1 atm selama 20-25 menit.

b. Pembuatan Media Induksi (MS 1)

Media induksi adalah medium MS yang diberi kolkisina sesuai perlakuan. Pembuatan media induksi dimulai dengan pembuatan medium MS seperti tersebut di atas, setelah sterilisasi medium MS dalam autoklaf, kemudian medium tersebut diberi pelakuan 0, 0,5, 1 dan 1,5 g.L⁻¹ kolkisina. Kolkisina dimasukkan ke dalam medium MS menggunakan saringan mikro berukuran 0,45 µmes supaya steril.

c. Pembuatan Media Regenerasi I (MS) dan II (MS 2)

Media regenerasi ada dua macam, yaitu media regenerasi I adalah medium MS tanpa hormon (MS) dan media regenerasi II adalah medium MS dengan hormon (MS 2). Pembuatan media regenerasi I telah dijelaskan di atas. Pembuatan media regenerasi II sama dengan pembuatan medium MS seperti tersebut di atas, ditambah hormon BAP (1 mg. L⁻¹) dan IBA (1 mg. L⁻¹).

Persiapan meristem batang bawang wakegi untuk eksplan dimulai dengan sterilisasi batangnya. Tanaman bawang wakegi yang sudah dicabut dicuci bersih dengan air mengalir dan sabun hingga hilang semua sisa tanahnya. Selanjutnya batang dipotong 3 cm di atas pangkal/dasar tanaman dan dipotong semua akarnya. Batang tersebut siap untuk diambil meristem batangnya di dalam *laminar air flow*.

Kegiatan penanaman meristem batang dilakukan di dalam *laminar air flow*, diawali dengan sterilisasi eksplan menggunakan alkohol 96% selama 10 detik, diikuti Clorox® 10% selama 10 menit lalu dibilas air steril tiga kali. Selanjutnya sterilisasi dengan 1 g/L HgCl dan dua tetes Tween® 20 selama 20 menit menggunakan stirer magnetik, lalu dibilas air steril tiga kali, masing-masing 3, 2, dan 1 menit. Setelah sterilisasi, eksplan dilepas pelepah daunnya satu per satu hingga diperoleh ukuran meristem batang 5-10 mm. Meristem batang yang diperoleh selanjutnya ditanam dalam media induksi

yaitu Murashige & Skoog (MS 1) yang telah diberi perlakuan kolkisina 0 g.L-1, 0,5 g.L-1, 1 g.L-1, dan 1,5 g.L-1, disimpan dalam ruang tanpa cahaya selama tiga hari. Selanjutnya meristem batang dipindah ke media regenerasi I (medium MS) tanpa hormon dalam ruangan dengan cahaya 16 jam selama dua minggu. Setelah itu dipindah ke media regenerasi II (medium MS 2) dengan tambahan hormon BAP (1 mg. L-1) dan IBA (1 mg. L-1). Planlet dipelihara di dalam botol dan dilakukan pengamatan yang pertama dimulai dua minggu setelah tanam hingga 8 minggu setelah tanam, setelah itu dilakukan pemeliharaan hingga tanaman siap diaklimatisasi.

Aklimatisasi dilakukan dengan beberapa tahap untuk menghindari tanaman stress menghadapi lingkungan baru. Botol planlet yang telah mencapai tinggi 5 cm dibuka tutupnya selama dua hari di ruang inkubasi. Selanjutnya botol dipindah keluar dari ruang inkubasi dan diletakkan di ruang preparasi selama dua hari dalam keadaan tutup dibuka. Setelah itu akar tanaman dibersihkan dari media agar dan ditanam dalam pot pasir.

Pengamatan kariotipe kromosom somatik dilaksanakan saat tanaman di dalam botol dan setelah aklimatisasi, yaitu ujung akar muda yang baru tumbuh berwarna putih dipotong dan diamati sel-sel meristem ujung akar sebanyak 10 sel tiap akar. Setiap tanaman diambil sampel tiga ujung akar. Sampel ujung akar sepanjang 1 cm direndam dalam air es selama 24 jam pada suhu 4°C, selanjutnya difiksasi dalam larutan campuran asam asetat dan etil alkohol (1:3 v/v) dan disimpan dalam lemari pendingin dengan suhu 8-10°C dengan maksimal penyimpanan 24 jam. Ujung akar yang telah difiksasi dibilas dengan air steril selama 10 menit untuk menghilangkan sisa fiksatif yang masih menempel. Setelah itu dihidrolisis dengan HCl 1N selama tujuh menit pada suhu 60°C. Selanjutnya pewarnaan kromosom sel-sel meristem dengan larutan fuchsin. Setelah itu sel diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 100 kali menggunakan Optilab tipe Advance. Pengamatan dan pembuatan kariotipe kromosom bawang daun dan bawang merah yang ditanam tidak secara invitro dan tidak diberi kolkisina dilakukan

sebagai pembanding untuk membuat karyotipe bawang wakegi ('Lembah Palu', 'Palasa', dan 'Sumenep') kontrol. Pembuatan karyotipe kromosom tersebut menggunakan program Adobe Photoshop CS3.

Pengamatan panjang dan lebar stomata, panjang dan lebar sel antar stomata serta kerapatan stomata dilakukan pada saat tanaman berumur 8 minggu setelah tanam. Pembuatan preparat dilakukan dengan cara cat kuku bening dioleskan pada bagian luar daun. Setelah cat tersebut kering, cetakan diangkat menggunakan potongan selotip transparan. Selanjutnya, cetakan stomata pada selotip bening tersebut ditempel pada kaca preparat dan diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 20 kali menggunakan Optilab viewer dan diukur serta dihitung kerapatannya menggunakan Image Raster. Untuk pengamatan ukuran stomata, dipilih dua daun dari bagian yang sama dari tanaman kontrol dan perlakuan. Lima stomata diukur untuk setiap daun. Untuk sel antar stomata, diamati ukurannya dari lima sampel sel di antara dua stomata. Satuan pengukuran untuk panjang dan lebar stomata dan sel antar stomata adalah mikrometer (μm), sedangkan untuk kerapatan stomata adalah mikrometer persegi (μm^2).

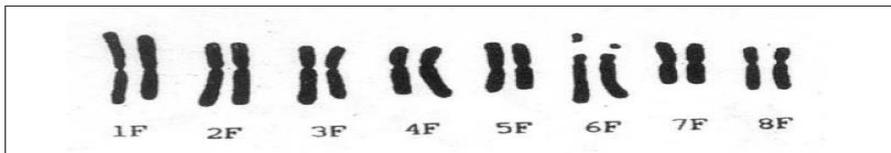
Perentase tanaman poliploid dihitung berdasarkan jumlah tanaman yang berhasil hidup sebelum aklimatisasi dan hasil pengamatan jumlah kromosom menggunakan rumus berikut :

$$\text{Persentase tanaman poliploid (\%)} = \frac{\text{jumlah tanaman poliploid}}{\text{jumlah tanaman dengan kolkisin yang berakar}} \times 100\%$$

Data kuantitatif yang diperoleh dianalisis varian (ANOVA) menggunakan Rancangan Acak Kelompok Lengkap Faktorial pada tingkat signifikansi 95%.

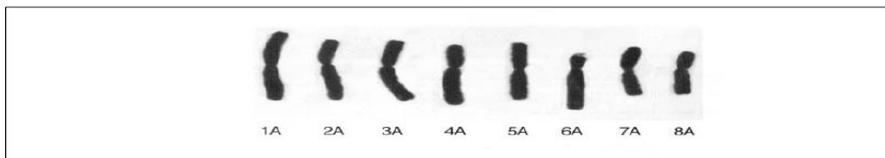
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengamatan awal yang dilakukan adalah membandingkan kromosom bawang wakegi yang digunakan pada penelitian ini ('Lembah Palu', 'Palasa' dan 'Sumenep') dengan kromosom bawang daun (Fragant) dan bawang merah (Tiron) untuk memastikan bahwa ketiga kultivar tersebut memiliki 6 kromosom yang berasal dari kromosom bawang merah dan 6 kromosom yang berasal dari bawang daun. Pemberian nama kromosom pada bawang daun berdasarkan pada Shigyo *et al.* (1994) (Gambar 1).



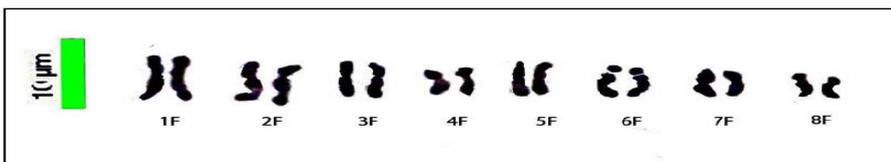
Gambar 1. Kariotipe bawang daun diploid (Shigyo *et al.*, 1994).

Pemberian nama kromosom pada bawang merah berdasarkan pada Endang (2004) (Gambar 2).

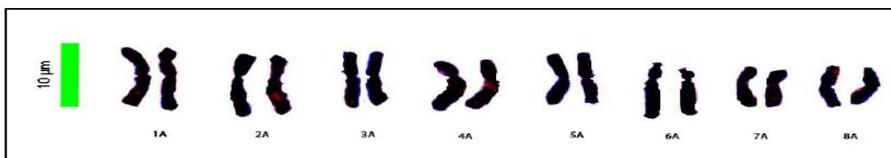


Gambar 2. Kariotipe bawang merah haploid (Endang, 2004).

Hasil kariotipe kromosom bawang daun dan bawang merah disajikan pada Gambar 3 dan 4.

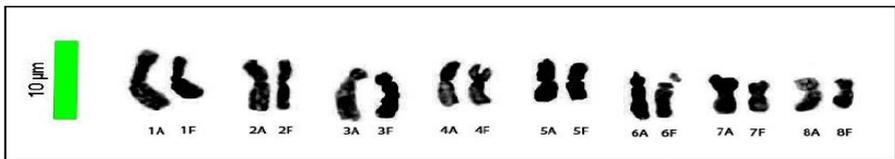


Gambar 3. Kariotipe kromosom bawang daun kontrol ('Fragant').

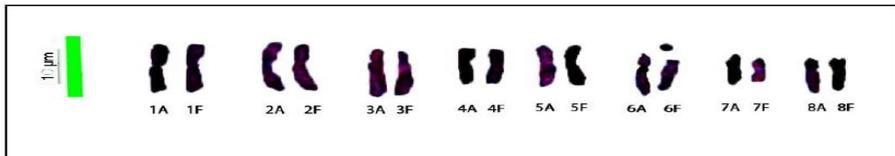


Gambar 4. Kariotipe kromosom bawang merah kontrol ('Tiron').

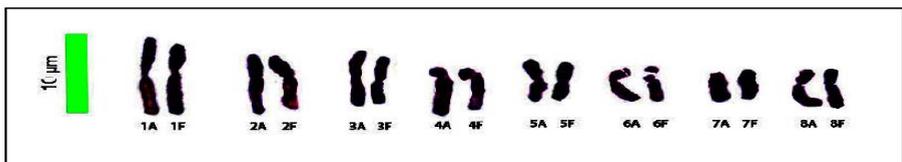
Bawang wakegi memiliki tipe kromosom K $(2n) = 14V + J_1^t + J_2^T$ (Tashiro *et al.*, 1984). Kariotipe kromosom bawang ‘Lembah Palu’ (gambar 5), ‘Palasa’ (gambar 6) dan ‘Sumenep’ (gambar 7) disusun dan diberi nama berdasarkan kariotipe kromosom bawang daun dan bawang merah. ‘Lembah Palu’, ‘Palasa’ dan ‘Sumenep’ memiliki 6 kromosom A yang berasal dari kromosom bawang merah dan 6 kromosom F yang berasal dari kromosom bawang daun. Hal itu dapat dilihat pada kromosom nomor 6 yang memiliki bentuk berbeda. Kromosom nomor 6 bawang merah memiliki satelit yang menempel pada ujung kromosom, sedangkan kromosom nomor 6 bawang daun memiliki satelit yang agak jauh dari ujung kromosomnya. Kromosom pada fase metafase yang menunjukkan kromosom nomor 6 disajikan pada Gambar 8.



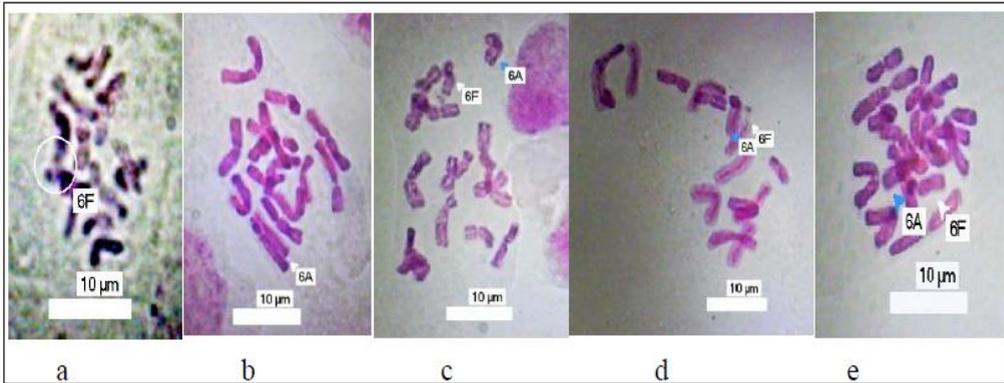
Gambar 5. Kariotipe kromosom bawang ‘Lembah Palu’ kontrol.



Gambar 6. Kariotipe kromosom bawang ‘Palasa’ kontrol.



Gambar 7. Kariotipe kromosom bawang ‘Sumenep’ kontrol.



Gambar 8. Kromosom nomor 6 bawang daun ‘Fragrant’ (a); bawang merah ‘Tiron’ (b); bawang wakegi ‘Lembah Palu’ (c), ‘Palasa’ (d) dan ‘Sumenep’ (e).

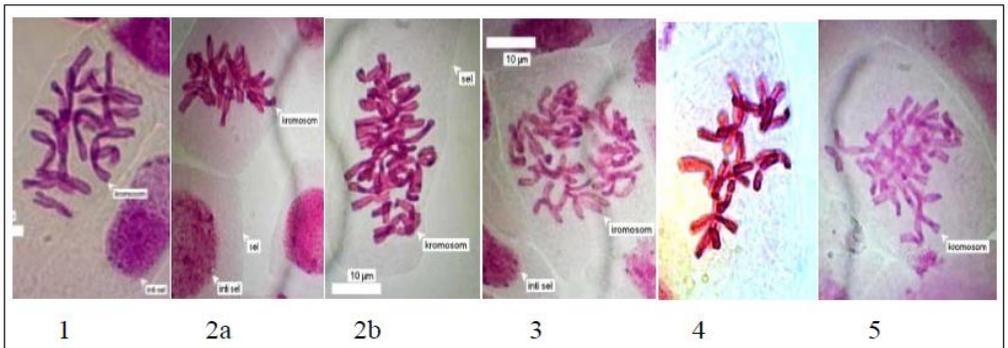
Hasil kariotipe kromosom ‘Lembah Palu’, ‘Palasa’ dan ‘Sumenep’ tersebut dapat digunakan untuk mengidentifikasi kromosom yang mengganda pada tanaman poliploid yang dihasilkan pada penelitian ini. Tetapi penelitian ini belum dapat mengidentifikasi kromosom mana yang mengganda karena tanaman belum sampai pada tahap aklimatisasi, sehingga banyak akar tidak mencukupi untuk mendapatkan preparat kromosom pada tahap metafase yang tepat.

Peningkatan jumlah kromosom terjadi pada ketiga kultivar bawang wakegi yang diberi perlakuan 0,5, 1 dan 1,5 g.L⁻¹ kolkisina dibandingkan dengan jumlah kromosom tanaman kontrol.

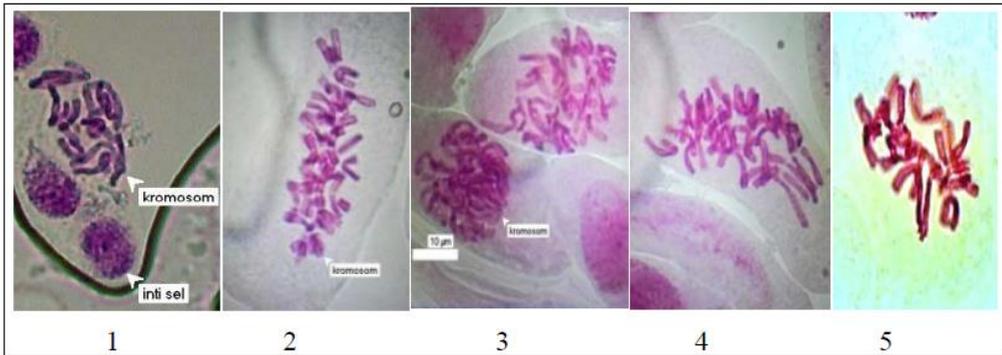
Sebanyak 24 tanaman kontrol (85,71%) ketiga kultivar bawang wakegi yang telah berakar memiliki jumlah kromosom $2n = 16$ (diploid). Dari 13 tanaman (24,07%) ketiga kultivar yang diberi perlakuan kolkisina dan berakar, diperoleh 4 tanaman tetraploid (30,77%). Jumlah kromosom $2n=32$ (tetraploid) diperoleh pada kultivar ‘Palasa’ dengan perlakuan 0,5 dan 1,5 g.L⁻¹ kolkisina serta kultivar ‘Sumenep’ dengan perlakuan kolkisina 1 g.L⁻¹. Tanaman khimera didapatkan pada kultivar ‘Palasa’ dengan pemberian kolkisina 0,5 g.L⁻¹ yang terlihat jumlah kromosom $2n = 19$ dan $2n = 24$ pada akar yang sama. Tanaman khimera juga didapatkan pada kultivar ‘Lembah

Palu' dengan 1 g.L-1 kolkisina yang memiliki kromosom $2n=22$ dan $2n=25$ dalam satu tanaman. Tanaman aneuploid diperoleh pada perlakuan 'Lembah Palu' dengan 0,5, 1 dan 1,5 g.L-1 kolkisina; 'Palasa' dengan 1 g.L-1 kolkisina; 'Sumenep' dengan 0,5, 1 dan 1,5 g.L-1 kolkisina (Tabel 1). Dari 13 tanaman ketiga kultivar yang diberi perlakuan kolkisina dan berakar, diperoleh 2 tanaman khimera (15,38%) dan 7 tanaman aneuploid (53,85%).

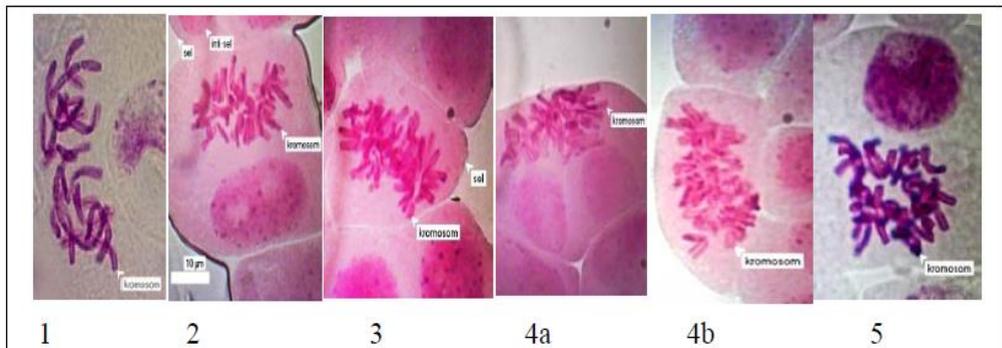
Jumlah kromosom tanaman tidak berubah setelah diaklimatisasi, kecuali pada tanaman khimera. 'Palasa' dengan perlakuan 0,5 g.L-1 kolkisina memiliki jumlah kromosom $2n=19$ dan $2n=24$ pada saat berumur delapan minggu setelah induksi di dalam botol. Tanaman tersebut memiliki jumlah kromosom $2n=19$ pada saat berumur satu minggu setelah aklimatisasi atau 28 minggu setelah induksi (Tabel 1).



Gambar 9. Kromosom kultivar 'Palasa' dengan perlakuan kolkisina (1) 0 g.L-1 (kontrol) memiliki jumlah kromosom $2n=16$, (2a) 0,5 g.L-1 memiliki jumlah kromosom $2n=19$ dan (2b) $2n=24$. (3) 0,5 g.L-1 memiliki jumlah kromosom $2n=32$, (4) 1 g.L-1 memiliki jumlah kromosom $2n=17$, (5) 1,5 g.L-1 memiliki jumlah kromosom $2n=32$.



Gambar 10. Kromosom kultivar 'Sumenep' (1) 0 g.L-1 (kontrol) memiliki jumlah kromosom $2n=16$, (2) 0,5 g.L-1 memiliki jumlah kromosom $2n=28$, (3) 1 g.L-1 memiliki jumlah kromosom $2n=26$, (4) 1 g.L-1 memiliki jumlah kromosom $2n=32$, (5) 1,5 g.L-1 memiliki jumlah kromosom $2n=19$.



Gambar 11. Kromosom kultivar 'Lembah Palu' (1) 0 g.L-1 (kontrol) memiliki jumlah kromosom $2n=16$, (2) 0,5 g.L-1 memiliki jumlah kromosom $2n=21$, (3) 1 g.L-1 memiliki jumlah kromosom $2n=21$, (4a) 1 g.L-1 memiliki jumlah kromosom $2n=22$ dan (4b) $2n=25$, (5) 1,5 g.L-1 memiliki jumlah kromosom $2n=21$.

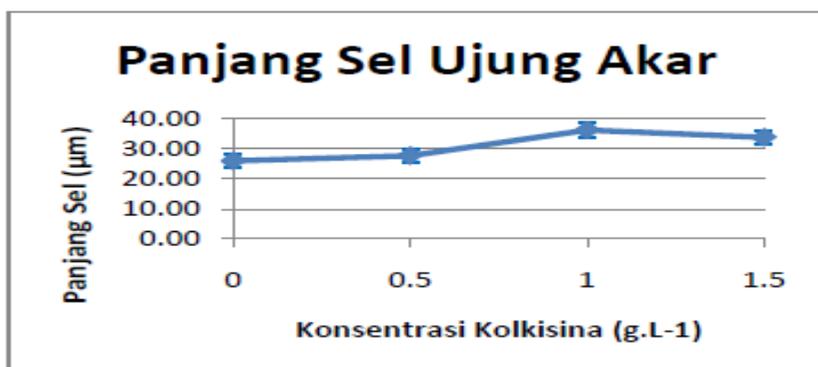
Peningkatan jumlah kromosom berkaitan dengan ukuran sel dan inti sel. Hal tersebut merupakan salah satu indikasi terjadinya poliploidi. Peningkatan jumlah kromosom pada penelitian ini disertai dengan peningkatan ukuran sel dan diameter inti sel ujung akar yang lebih besar pada perlakuan kolkisina dibandingkan kontrolnya.

Perlakuan kolkisina pada bawang wakegi kultivar 'Lembah Palu', 'Palasa' dan 'Sumenep' menghasilkan perubahan pada ukuran sel dan jumlah

kromosom jika dibandingkan dengan tanaman yang tidak diberi kolkisina (kontrol).

Tabel 1. Habitus dan jumlah kromosom setelah aklimatisasi.

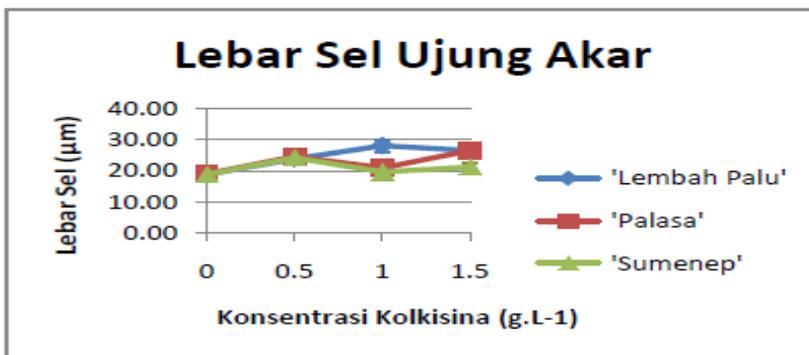
No.	Perlakuan	Habitus	Kromosom Setelah Aklimatisasi	Jumlah Kromosom	
				Sebelum Aklimatisasi	Setelah Aklimatisasi
1.	Palasa Kontrol	 1 bulan setelah aklimatisasi	 10µm	2n=16	2n=16
2.	Palasa 0,5 g.L ⁻¹ Kolkisina	 1 bulan setelah aklimatisasi	 10µm	2n=19 dan 2n=24	2n=19
3.	Sumenep 1 g.L ⁻¹ Kolkisina	 7 hari setelah aklimatisasi	 10µm	2n=26	2n=26



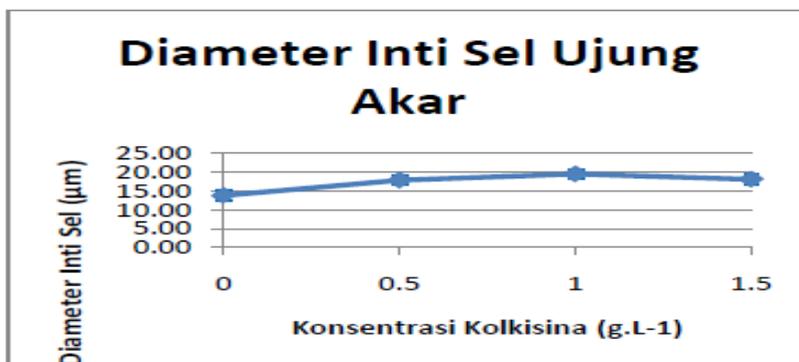
Gambar 12. Grafik panjang sel ujung akar pada perlakuan kolkisina.

Sel ujung akar pada perlakuan 1 g.L⁻¹ kolkisina nyata lebih panjang dibandingkan kontrol dan perlakuan 0,5 g.L⁻¹ kolkisina, namun tidak berbeda panjangnya dengan perlakuan 1,5 g.L⁻¹ kolkisina (Gambar 12).

Hasil analisis varians terhadap lebar sel ujung akar menunjukkan ada interaksi antara perlakuan kultivar dan kolkisina (Lampiran 6). Ukuran sel ujung akar 'Lembah Palu' pada perlakuan 1 g.L⁻¹ kolkisina nyata lebih lebar dibandingkan kontrol dan perlakuan lainnya, tetapi tidak berbeda dengan 'Lembah Palu' pada perlakuan 1,5 g.L⁻¹ kolkisina dan 'Palasa' pada perlakuan 0,5 dan 1,5 g.L⁻¹ kolkisina (Gambar 13).



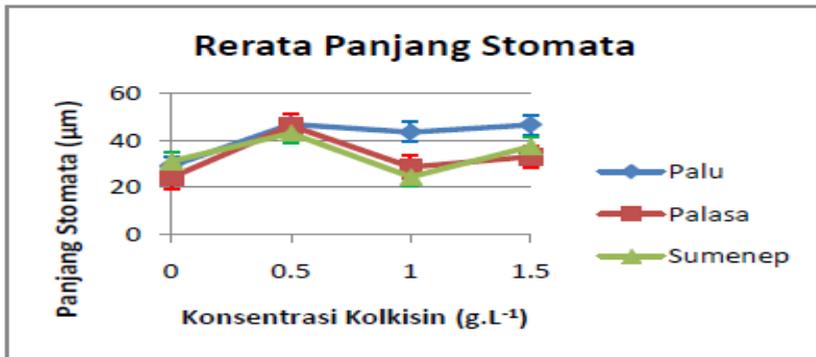
Gambar 13. Grafik lebar sel ujung akar



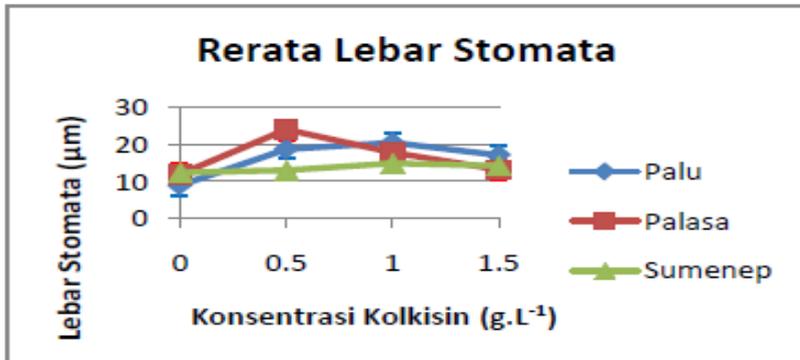
Gambar 14. Diameter inti sel ujung akar pada perlakuan kolkisina.

Analisis varians terhadap diameter inti sel menunjukkan bahwa tidak ada interaksi antara perlakuan kultivar dan kolkisina. Pemberian kolkisina berpengaruh terhadap diameter inti sel ujung akar (Lampiran 6). Perlakuan

kolkisina nyata meningkatkan diameter inti sel pada ujung akar, namun tidak ada perbedaan diameter inti sel antar konsentrasi kolkisina (Gambar 14).

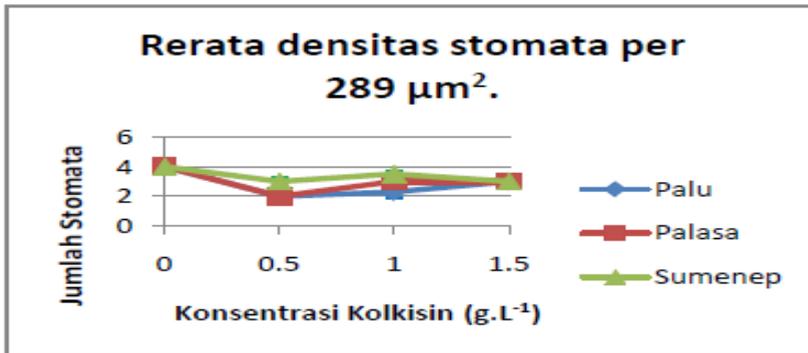


Gambar 15. Grafik rerata panjang stomata (µm).



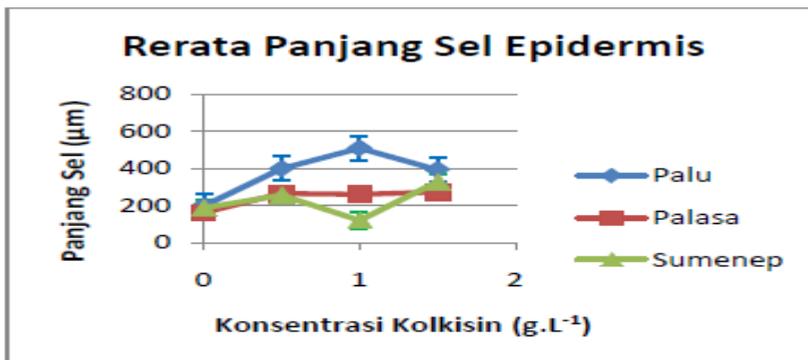
Gambar 16. Grafik rerata lebar stomata (µm).

Semua kultivar yang tidak diberi kolkisina (kontrol) lebih pendek stomatanya dibandingkan semua kultivar pada perlakuan 0,5 dan 1 g.L⁻¹ kolkisina serta 'Lembah Palu' pada 1 g.L⁻¹ kolkisina (Gambar 15). Lebar stomata terbesar dijumpai pada 'Palasa' dengan perlakuan 0,5 g.L⁻¹ kolkisina tidak berbeda nyata dengan 'Lembah Palu' pada 0,5 dan 1 g.L⁻¹ kolkisina. Perlakuan 0,5 dan 1 g.L⁻¹ kolkisina pada semua kultivar nyata meningkatkan lebar stomata kecuali pada 'Sumenep' dibandingkan dengan kontrolnya (Gambar 16).



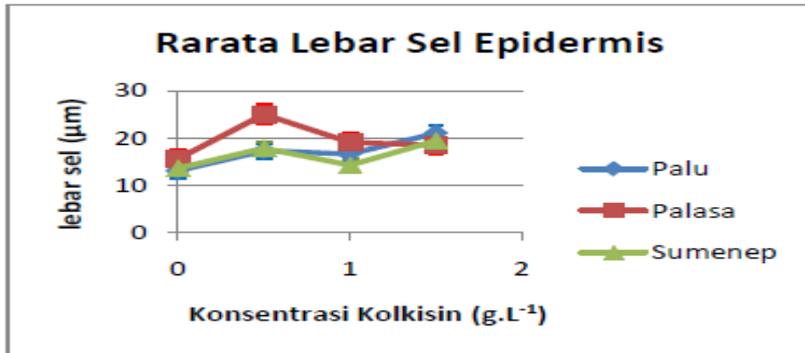
Gambar 17. Grafik rerata densitas stomata per 298 μm^2 .

Jumlah stomata tanaman kontrol semua kultivar lebih banyak dibandingkan perlakuan lainnya, tetapi tidak berbeda nyata dengan 'Sumenep' pada 1 g.L^{-1} kolkisina. Jumlah stomata paling sedikit dijumpai pada 'Lembah Palu' dan 'Palasa' dengan 0,5 g.L^{-1} kolkisina dan tidak berbeda nyata dengan 'Lembah Palu' pada 1 g.L^{-1} kolkisina (Gambar 17).



Gambar 18. Grafik rerata panjang sel epidermis (μm).

Sel epidermis paling panjang dijumpai pada perlakuan 'Lembah Palu' dengan 1 kolkisina tidak berbeda nyata dengan 'Lembah Palu' pada 0,5 dan 1,5 g.L^{-1} kolkisina (Gambar 18). Lebar sel epidermis paling besar dijumpai pada perlakuan 'Palasa' dengan 0,5 kolkisina (Gambar 19).



Gambar 19. Grafik rerata lebar sel epidermis (µm).

KESIMPULAN

1. Induksi kolkisina 1 g.L⁻¹ selama 3 hari menghasilkan poliploid pada bawang wakegi kultivar 'Sumenep' dengan jumlah kromosom 2n=32 (tetraploid), sedangkan pada kultivar 'Palasa' dengan perlakuan kolkisina 0,5 dan 1,5 g.L⁻¹.
2. Tanaman poliploid tersebut diatas memiliki ukuran stomata dan epidermis lebih besar serta densitas stomata lebih sedikit dibanding tanaman kontrol.

DAFTAR PUSTAKA

- Adaniya, S., S. Tamaki. (1991). Colchicine-induced Cytochimeras of *Allium wakegi* Araki and Their Growth Characteristics. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 60 (1) : 105-112.
- Arifin, N.S., H.Okubo. 1996. Geographical distribution of allozyme patterns in shallot (*Allium cepa* var. *ascalonicum* Backer) and Wakegi onion (*A. x wakegi* Araki). Euphytica 91 : 305-313.
- Endang, S. 2004. Fertilitas Tanaman Bawang Merah *Double Haploid*. Ilmu Pertanian 11 (1) : 1-6.
- Endang, S. 2008. Identification of Wakegi Onion In Indonesia by GISH. Proceeding of Spring Meeting of Japanese Society for Horticultural Science. P70.
- Gao, S.L., D.N. Zhu, Z.H. Cai, D.R. Xu. 1996. Autotetraploid Plants from Kolkisina-treated Bud Culture of *Salvia miltiorrhiza* Bge. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 47 : 73-77.

- Haryanti, S.E., Hayati, N.E. 2011. Pedoman Pemurnian Varietas Bawang Merah. Direktorat Perbenihan Hortikultura, Dirjen. Hortikultura Kementerian Pertanian. 51p.
- Indarmanah. 2006. Induksi Variasi Somaklonal Kultur Meristem Apikal Bawang Daun Menggunakan Kolkisin. Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. 51p.
- Limbongan, J., Maskar. 2003. Potensi Pengembangan dan Ketersediaan Teknologi Bawang Merah Palu di Sulawesi Tengah. Jurnal Litbang Pertanian 22 (3) : 103-108
- Liu, Z., S.Gao. 2007. Micropropagation and Induction of Autotetraploid Plants of *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.) Vis. In Vitro Cell.Dev.Biol.-Plant 43 : 404-408.
- Permadi, A.H. 1995. Teknologi Produksi Bawang Merah. Pusat Penelitian dan Pengembangan Hortikultura, Balitbang Pertanian. Jakarta. 26-45.
- Shigyo, M., Y. Tashiro, S. Miyazaki. 1994. Chromosomal location of glutamate oxaloacetate transaminase gene loci in Japanese bunching onion (*Allium fistulosum* L.) and shallot (*A. cepa* L. Aggregatum group). The Japanese Journal of Genetics 69 (4) : 417-424.
- Song, P., W. Kang, E.B. Peffley. 1997. Chromosome Doubling of *Allium fistulosum* x *A. cepa* Interspecific F1 Hybrids Through Colchicine Treatment of Regenerating Callus. Euphytica 93 : 257-262.
- Tashiro, Y., S. Miyazaki, K. Kanazawa, H. Hashimoto. 1983. Cytogenetic Studies on The Origin of *Allium wakegi* Araki. III. Restoration of The Fertility *A. wakegi* by Doubling The Chromosome Complement. Bull. Fac. Agr., Saga Univ. 55: 125-129.
- Tashiro, Y., T. Oyama, K. Yamashita, P.T.M. Phuong, T. Nakashima, K. Mori. 2006. Distribution, Origin and Breeding of Wakegi Onion. Proceedings of The Japan/Taiwan Symposium : Application of Biotechnology to Horticulture Industry. Y. Tashiro dan J.F. Shaw Ed. Showado Co. Takagise-nishi, Saga Japan. Hal. 81-85