

INDUKSI KALUS EMBRIOGENIK PADA PERBANYAKAN LEEK (*Allium porrum* L.)
EMBRYOGENIC CALLUS INDUCTION ON THE MULTIPLICATION OF LEEK
(Allium porrum L.)

Reskhi Oktaviani¹, Endang Pudjihartati², Maria Marina Herawati²

Diterima 13 April 2012, disetujui 31 Juli 2012

PENDAHULUAN

Daun bawang (*Allium porrum*) merupakan jenis sayuran dari famili Liliaceae. Daun bawang banyak digunakan sebagai bahan penyedap rasa dan campuran berbagai masakan. Daun bawang jenis leek memiliki aroma yang kuat dan sangat baik digunakan sebagai bahan penyedap rasa. Tanaman *leek* di Indonesia harus dibudidayakan di dataran tinggi karena tanaman ini berasal dari daerah subtropis. Di daerah tropis, *leek* sulit membentuk bunga sehingga petani terbiasa menggunakan anakan sebagai bibit (benih vegetatif) untuk perbanyakan tanaman. Permasalahan yang muncul dalam budidaya leek jenis *Allium porrum* L. varietas MPLK AT (AMS Seed) yang selama ini sudah dilakukan adalah bahwa tanaman ini tidak membentuk anakan dan tidak berbunga sehingga setiap kali penanaman harus menggunakan benih yang baru (komunikasi pribadi dengan Ayep Rohman Kurnia, 2008³).

Kultur jaringan merupakan salah satu cara yang tepat untuk menyediakan kebutuhan bibit tersebut. Melalui kultur jaringan, tanaman dapat diperbanyak setiap saat tanpa tergantung musim, mempunyai daya multiplikasi yang tinggi, dan sifat yang sama dengan tanaman induk.

Menurut Wetter dan Constabel (1991), media Murashige dan Skoog (MS) digunakan secara luas untuk perbanyakan kalus pada agar. Keistimewaan medium MS adalah kandungan kalium dan amoniumnya yang tinggi, di samping kandungan nitratnya juga tinggi (Zulkarnain, 2009). Penelitian yang dilakukan oleh Van Der Valk *dkk* (1992), menyatakan bahwa media MS berhasil menginduksi kalus embriogenik pada tiga spesies *Allium* yang dicobakan. Dari penelitian Sukmadjaja (2005) pada tanaman cendana, menunjukkan bahwa media MS yang diperkaya dengan BA menunjukkan respon yang lebih baik dalam membentuk embrio somatik dibandingkan dengan MS + thidiazuron.

¹ Alumni Fakultas Pertanian & Bisnis Universitas Kristen Satya Wacana, E-mail: reskhioktaviani@yahoo.com

² Dosen Fakultas Pertanian & Bisnis Universitas Kristen Satya Wacana, E-mail: endangeps@staff.uksw.edu
Jl. Diponegoro 52-60 Salatiga

³ Pengelola pembibitan *Leek* di Purwokerto

Gunawan (1988) menyatakan bahwa penambahan zat pengatur tumbuh pada media kultur digunakan untuk mengarahkan perkembangan kultur. Pemberian ZPT umumnya disesuaikan dengan kebutuhan eksplan tanaman yang dikulturkan dan tujuan yang hendak dicapai dengan pemberian ZPT tersebut.

Widoretno *dkk.* (2003) menyatakan bahwa eksplan ES primer dari kotiledon tanaman kedelai yang dikulturkan dalam media dengan NAA tidak dapat membentuk ES sekunder. Sedangkan ES primer dalam media dengan 2,4-D mampu membentuk ES sekunder. Demikian juga hasil penelitian yang diperoleh Edy dan Pujiswanto (2008), pada semua varietas kacang tanah yang dicoba, eksplan *leaflet* embrio yang dikultur tanpa penambahan 2,4-D tidak membentuk kalus embriogenik. Dinarti *dkk.* (2007) menyatakan konsentrasi 0,5 ppm 2,4-D sudah mampu menginduksi kalus pada bawang merah. Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Ibrahim *dkk.* (2004) pada tanaman *Echinaceae purpurea* menyatakan bahwa konsentrasi 2,4-D 1 mg/l mampu menginduksi kalus yang kompak dan embrionik. Penelitian Anil *dkk.* (2005) menunjukkan bahwa kombinasi terbaik untuk kultur kalus pada bawang putih dengan menggunakan 2,4-D 0,25 mg/l dan BA 1 mg/l. Hasil penelitian Oggema *dkk.* (2007) pada tanaman ubi jalar, diamati bahwa konsentrasi optimum 2,4-D untuk membentuk kalus embriogenik adalah 0,5 atau 1,0 mg/l.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui macam eksplan dan komposisi ZPT yang paling baik untuk menginduksi kalus embriogenik.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium Fisiologi Fakultas Pertanian Universitas Kristen Satya Wacana, Salatiga pada bulan Maret sampai November 2009.

Percobaan ini merupakan percobaan Faktorial, dua faktor perlakuan dengan lima ulangan menggunakan rancangan dasar Rancangan Acak

Kelompok (RAK), dan masing-masing ulangan terdiri dari 4 botol, masing-masing botol berisi 5 eksplan. Keseluruhan penelitian berjumlah 480 botol atau 2400 eksplan. Faktor pertama M_1 : pangkal daun umur 1 bulan, M_2 : pangkal daun umur 2 bulan, M_3 : ujung akar umur 1 bulan, M_4 : ujung akar umur 2 bulan. Faktor kedua K_1 : 0,5 mg/l 2,4-D, K_2 : 1 mg/l 2,4-D, K_3 : 1,5 mg/l 2,4-D, K_4 : 0,5 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BA, K_5 : 1 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BA, K_6 : 1,5 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BA.

Variabel penelitian meliputi persentase eksplan yang membentuk ES adalah jumlah eksplan dengan ES dibagi jumlah eksplan yang dikultur, rataan jumlah ES per eksplan adalah jumlah ES per eksplan, dan skor kalus adalah skoring respon pembentukan kalus embriogenik yang berkembang dari eksplan. Data dianalisis menggunakan analisis sidik ragam. Selanjutnya untuk mengetahui pengaruh antar perlakuan dilakukan pengujian dengan menggunakan uji Beda Nyata Jujur pada taraf 5%. Untuk mengetahui kombinasi perlakuan yang memberikan hasil terbaik digunakan analisis regresi.

Eksplan diperoleh dari bibit invitro. Pangkal daun dan ujung akar berumur 1 dan 2 bulan sesuai perlakuan.

Skoring respon pembentukan embrio somatic (ES) primer dan tersier yang berkembang dari eksplan pangkal daun dan ujung akar tanaman *Leek* dilakukan dengan kriteria sebagai berikut (Gambar 1.): skor 0 jika eksplan tidak membentuk kalus; skor 1 jika kalus terbentuk tetapi kalus embriogenik 0%, atau belum terlihat struktur ES; skor 2 jika kalus embriogenik <10%, ES memasuki fase *globular*; skor 3 jika kalus embriogenik 11-40%, ES memasuki fase *globular* dan *heart shape*; skor 4 jika kalus embriogenik 41-70%, ES memasuki fase *globular*, *heart shape*, dan *torpedo*; skor 5 jika kalus embriogenik >71%, ES memasuki fase *globular*, *heart shape*, dan *torpedo*.

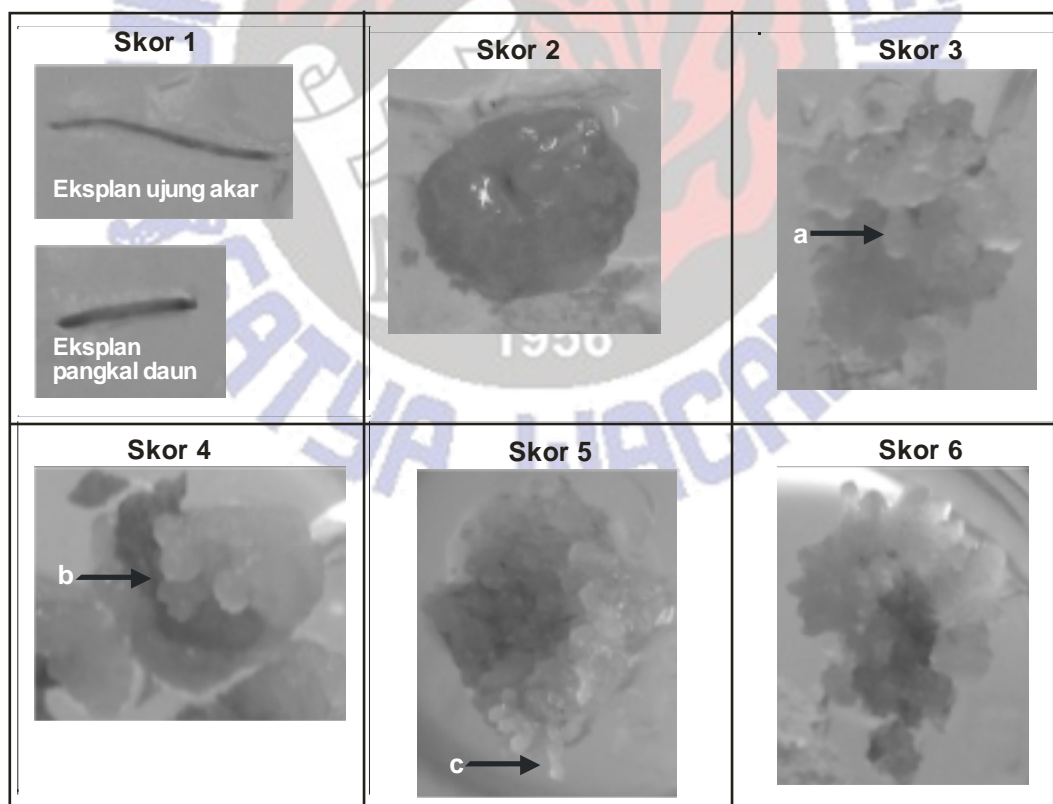
HASIL DAN PEMBAHASAN

Persentase Eksplan yang Membentuk ES Primer

Eksplan yang diambil dari bagian tanaman dan umur yang berbeda dapat memiliki karakteristik yang berbeda. Menurut Smith (2000) umur dari eksplan merupakan faktor yang penting, kultur eksplan yang berasal dari jaringan muda akan lebih responsif dibandingkan dari jaringan tua. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pada penggunaan ZPT 2,4-D pengaruh macam eksplan hanya diamati pada media dengan konsentrasi 0,5 mg/l. Eksplan ujung akar umur 1 bulan memberikan hasil yang nyata lebih tinggi daripada eksplan pangkal daun umur 1 bulan. Penambahan umur pada eksplan pangkal daun maupun ujung akar tidak meningkatkan persentase eksplan yang membentuk ES primer. Penambahan 1,0 mg/l BA

akan meningkatkan persentase eksplan yang membentuk ES primer pada konsentrasi 2,4-D 0,5 mg/l dan 1,0 mg/l jika digunakan eksplan ujung akar umur 1 bulan. Berdasarkan analisis statistik, nilai tertinggi (8,788 %) diperoleh dari perlakuan 1,0 mg/l 2,4-D + 1,0 mg/l BA dengan eksplan ujung akar umur 1 bulan.

Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa pengaruh komposisi ZPT hanya terlihat pada eksplan ujung akar umur 1 bulan. Berdasarkan analisis statistik, nilai yang diperoleh menunjukkan penambahan konsentrasi ZPT cenderung menurunkan persentase eksplan yang membentuk ES primer meskipun tidak nyata. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Fetrina dkk, 2003 pada embriogenesis somatik langsung pada tanaman kopi arabika, yang menyatakan bahwa peningkatan konsentrasi 2,4-D pada medium induksi



Gambar 1. Skoring Embrio Somatik Kultur *In Vitro* Leek (skor 1 s/d skor 5). Embrio Somatik (ES) fase *globular* (a), ES fase *heart shape* (b) dan ES fase *torpedo* (c)

mengakibatkan pe-nurunan jumlah ES yang terbentuk. Sedangkan penambahan 1,0 mg/l BA cenderung meningkatkan persentase eksplan yang membentuk ES primer, meskipun tidak nyata.

Pengaruh rangsangan auksin terhadap jaringan berbeda-beda, rangsangan yang paling kuat terutama adalah terhadap sel-sel meristem. Tetapi pada kadar yang tinggi, auksin lebih bersifat menghambat daripada merangsang morfogenesis. Menurut Smith (2000) auksin jenis 2,4-D dapat memacu pertumbuhan kalus pada eksplan. Di dalam kultur jaringan, morfogenesis dari eksplan selalu tergantung dari interaksi antara auksin dan sitokinin. Prinsip keseimbangan auksin dan sitokinin dari Skoog dan Miller (1957, dalam Wattimena

1992) tetap dipergunakan sampai saat ini. George dan Sherrington (1984) menggambarkan bahwa untuk pembentukan kalus tetap memerlukan sitokinin di samping auksin. Hendaryono, 1994 menyatakan hasil percobaan pada tanaman tembakau dan kedelai, ternyata kalus tidak mau tumbuh pada media dengan auksin saja, tetapi untuk pertumbuhan kalus memerlukan penambahan sitokinin. Hasil penelitian ini sesuai dengan hipotesis kedua, yaitu komposisi zat pengatur tumbuh 2,4-D 1 mg/l + BA 1 mg/l mampu meningkatkan jumlah eksplan yang membentuk kalus embriogenik.

Tabel 1 Pengaruh Macam Eksplan dan berbagai Komposisi ZPT Terhadap Persentase Eksplan yang membentuk ES Primer

Macam Eksplan	Persentase Eksplan yang membentuk ES Primer					
	K ₁	K ₂	K ₃	K ₄	K ₅	K ₆
M ₁	0,707 a A	0,707 a A	0,707 a A	0,707 a A	0,707 a A	0,707 a A
M ₂	3,367 a AB	1,471 a A	1,471 a A	2,603 a A	2,885 a A	2,999 a A
M ₃	4,906 ab B	3,536 ab A	2,235 a A	6,562 b B	8,788 b B	4,011 a A
M ₄	2,999 a AB	1,838 a A	2,235 a A	1,838 a A	3,367 a A	2,885 a A

Keterangan :

Huruf besar di bawah bilangan ke arah vertikal, digunakan untuk membedakan adanya pengaruh macam eksplan. Sedangkan huruf kecil di sisi bilangan ke arah horizontal, digunakan untuk membedakan adanya pengaruh komposisi ZPT.

M : Macam eksplan; M₁ : pangkal daun umur 1 bulan, M₂ : pangkal daun umur 2 bulan, M₃ : ujung akar umur 1 bulan; M₄ : ujung akar umur 2 bulan.

K : Komposisi media; K₁ : 0,5 mg/l 2,4-D; K₂ : 1,0 mg/l 2,4-D; K₃ : 1,5 mg/l 2,4-D; K₄ : 0,5 mg/l 2,4-D + 1mg/l BA; K₅ : 1 mg/l 2,4-D + 1mg/l BA; K₆ : 1,5 mg/l 2,4-D + 1mg/l BA.

Persentase Eksplan yang Membentuk ES Tersier

Hasil penelitian yang disajikan pada Tabel 2. menunjukkan bahwa pada penambahan ZPT 2,4-D hanya menunjukkan pengaruh macam eksplan pada konsentrasi 0,5 mg/l. Penambahan umur pada eksplan pangkal daun meningkatkan

persentase eksplan yang membentuk ES tersier, meskipun tidak nyata. Penggunaan eksplan ujung akar baik umur 1 bulan maupun 2 bulan mampu menghasilkan persentase eksplan yang membentuk ES tersier lebih baik dari eksplan pangkal daun. Pada penambahan 1,0 mg/l BA pengaruh macam

eksplan hanya terlihat pada komposisi 1,0 mg/12,4-D. Persentase eksplan yang membentuk ES tersier pada eksplan pangkal daun meningkat dengan bertambahnya umur eksplan, meskipun peningkatannya tidak nyata. Sedangkan penggunaan eksplan ujung akar umur 1 bulan maupun 2 bulan nyata menghasilkan persentase eksplan yang lebih tinggi dibandingkan penggunaan eksplan pangkal daun umur 1 bulan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa eksplan ujung akar umur 1 bulan maupun 2 bulan ternyata mampu menghasilkan persentase eksplan yang membentuk ES tersier lebih baik daripada eksplan pangkal daun. Hal tersebut diduga karena proses sintesis sitokinin terjadi di akar, dimana sitokinin dapat menstimulasi pembentukan kalus, sehingga eksplan ujung akar lebih mudah diinduksi untuk

membentuk embrio somatik dibandingkan dengan eksplan pangkal daun.

Pengaruh komposisi ZPT terhadap persentase eksplan yang membentuk ES tersier hanya terlihat pada eksplan ujung akar umur 1 bulan. Dari semua komposisi media yang dicoba, peningkatan persentase eksplan yang membentuk ES tersier ditunjukkan pada media 0,5 mg/l 2,4-D dan 1,0 mg/l 2,4-D + 1,0 mg/l BA.

Periode lamanya kalus dalam kultur jaringan akan mempengaruhi potensial morfogenetik dari sel tersebut. Potensial morfogenetiknya meningkat hanya dalam waktu singkat (satu atau dua kali subkultur) yang diikuti dengan kemampuan regenerasi yang tinggi, setelah itu potensial morfogenesisnya menurun (Wattimena, 1992).

Tabel 2 Pengaruh Macam Eksplan dan berbagai Komposisi ZPT Terhadap persentase Eksplan yang Membentuk ES Tersier

Macam Eksplan	Persentase Eksplan yang Membentuk ES Tersier					
	K ₁	K ₂	K ₃	K ₄	K ₅	K ₆
M ₁	0,707 a A	0,707 a A	0,707 a A	0,707 a A	0,707 a A	0,707 a A
M ₂	1,439 a AB	0,969 a A	1,209 a A	1,59 a A	1,918 a AB	1,648 a A
M ₃	3,734 b B	0,707 a A	0,707 a A	1,471 ab A	3,65 b B	2,235 ab A
M ₄	4,131 a B	1,838 a A	1,471 a A	1,471 a A	3,734 a B	2,235 a A

Keterangan :

Huruf besar di bawah bilangan ke arah vertikal, digunakan untuk membedakan adanya pengaruh macam eksplan. Sedangkan huruf kecil di sisi bilangan ke arah horisontal, digunakan untuk membedakan adanya pengaruh komposisi ZPT.

M : Macam eksplan; M₁ : pangkal daun umur 1 bulan; M₂ : pangkal daun umur 2 bulan; M₃ : ujung akar umur 1 bulan; M₄ : ujung akar umur 2 bulan.

K : Komposisi media; K₁ : 0,5 mg/l 2,4-D; K₂ : 1,0 mg/l 2,4-D; K₃ : 1,5 mg/l 2,4-D; K₄ : 0,5 mg/l 2,4-D + 1mg/l BA; K₅ : 1 mg/l 2,4-D + 1mg/l BA; K₆ : 1,5 mg/l 2,4-D + 1mg/l BA.

Rataan Jumlah ES primer per eksplan

Faktor yang mempengaruhi rata-rata jumlah ES per eksplan adalah kemampuan sel untuk membelah. Setelah eksplan mampu membentuk kalus, maka tahap selanjutnya adalah pembelahan sel. Sumber dan umur eksplan juga berpengaruh terhadap kemampuan pembelahan sel. Semakin tua umur eksplan maka kemampuan sel-selnya untuk membelah akan semakin menurun. Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian yang disajikan pada Tabel 3, menunjukkan bahwa pada aplikasi 2,4-D, pengaruh macam eksplan hanya terlihat pada konsentrasi 0,5 mg/l 2,4-D. Rataan jumlah ES primer per eksplan ujung akar umur 1 bulan menghasilkan rata-rata jumlah ES lebih tinggi daripada eksplan pangkal daun umur 1 bulan. Sedangkan penambahan umur eksplan menjadi 2 bulan tidak menunjukkan adanya pengaruh macam eksplan terhadap jumlah ES primer per eksplan. Penambahan 1,0 mg/l BA menunjukkan pengaruh macam eksplan pada media dengan 1,0 mg/l 2,4-D memberikan pengaruh yang nyata. Penggunaan eksplan ujung akar umur 1 bulan maupun 2 bulan menghasilkan jumlah ES per eksplan yang nyata

lebih banyak dibandingkan dengan eksplan pangkal daun umur 1 bulan.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pengaruh macam eksplan sangat nyata terhadap pembentukan ES. Eksplan ujung akar mampu menghasilkan rata-rata jumlah ES primer per eksplan yang lebih tinggi dibandingkan dengan eksplan pangkal daun. Hal ini diduga karena proses sintesis sitokinin terjadi di akar, sehingga eksplan ujung akar mampu berkembang lebih baik. Hal ini tidak sesuai dengan hipotesis yang menyatakan eksplan pangkal daun umur 1 bulan merupakan eksplan yang terbaik untuk induksi kalus embriogenik pada tanaman *Leek*.

Pengaruh komposisi ZPT hanya diamati pada penggunaan eksplan ujung akar umur 1 bulan. Berdasarkan analisis statistik, nilai yang diperoleh menunjukkan peningkatan konsentrasi 2,4-D cenderung menurunkan rata-rata jumlah ES primer per eksplan, meski tidak nyata. Penambahan 1,0 mg/l BA meningkatkan rata-rata jumlah ES primer secara nyata bila digunakan dengan konsentrasi 1,0 mg/l 2,4-D.

Tabel 3. Pengaruh Macam Eksplan dan berbagai Komposisi ZPT Terhadap Rataan Jumlah ES Tersier per Eksplan

Macam Eksplan	Rataan Jumlah ES primer per eksplan					
	K ₁	K ₂	K ₃	K ₄	K ₅	K ₆
M ₁	0,707 a A	0,707 a A	0,707 a A	0,707 a A	0,707 a A	0,707 a A
M ₂	1,06 a AB	1,035 a A	0,811 a A	1,043 a AB	1,248 a AB	1,138 a A
M ₃	1,656 ab B	1,271 a A	0,985 a A	1,71 ab B	2,46 b B	1,352 a A
M ₄	1,384 a AB	0,94 a A	1,043 a A	0,94 a AB	1,869 a B	1,069 a A

Keterangan :

Huruf besar di bawah bilangan ke arah vertikal, digunakan untuk membedakan adanya pengaruh macam eksplan. Sedangkan huruf kecil di sisi bilangan ke arah horisontal, digunakan untuk membedakan adanya pengaruh komposisi ZPT.

M: Macam eksplan; M₁: pangkal daun umur 1 bulan; M₂: pangkal daun umur 2 bulan; M₃: ujung akar umur 1 bulan; M₄: ujung akar umur 2 bulan.

K : Komposisi media; K₁: 0,5 mg/l 2,4-D; K₂: 1,0 mg/l 2,4-D; K₃: 1,5 mg/l 2,4-D; K₄: 0,5 mg/l 2,4-D + 1mg/l BA; K₅: 1 mg/l 2,4-D + 1mg/l BA; K₆: 1,5 mg/l 2,4-D + 1mg/l BA.

Pengaruh auksin pada kadar yang sesuai terhadap perkembangan sel menunjukkan adanya indikasi bahwa auksin dapat menaikkan tekanan osmotik, meningkatkan sintesa protein, meningkatkan permeabilitas sel terhadap air, dan melunakkan dinding sel yang diikuti menurunnya tekanan dinding sel sehingga air dapat masuk ke dalam sel yang disertai dengan kenaikan volume sel. Dengan adanya kenaikan sintesa protein, maka dapat digunakan sebagai sumber tenaga dalam pertumbuhan (Hendaryono, 1994). Sehingga pada konsentrasi yang sesuai akan meningkatkan pembelahan sel, di samping itu penambahan sitokinin jenis BA akan semakin meningkatkan pertumbuhan sel. Pierik (1997, dalam Zulkarnain 2009) menyatakan bahwa pada umumnya auksin meningkatkan pemanjangan sel dan pembelahan sel.

Skoring Respon Pembentukan ES Primer

Tahap akhir dari kultur kalus dapat diukur menggunakan skor respons terhadap pembentukan ES. Dalam menentukan skor ES, proses morfogenesis, pembelahan sel, dan diferensiasi sangat menen-

tukan. Pengaruh macam eksplan terhadap skor ES primer (Tabel 4.) menunjukkan pada konsentrasi 0,5 mg/l 2,4-D, penambahan umur eksplan pangkal daun dari 1 bulan menjadi 2 bulan meningkatkan skor ES primer secara nyata. Penggunaan eksplan ujung akar baik 1 bulan maupun 2 bulan menunjukkan skor yang sama dengan eksplan pangkal daun umur 2 bulan. Penambahan konsentrasi 2,4-D menjadi 1,0 mg/l menunjukkan bahwa skor ES primer pada eksplan ujung akar umur 2 bulan nyata lebih tinggi dibandingkan dengan 1 bulan, tetapi tidak nyata pada eksplan pangkal daun. Penambahan konsentrasi menjadi 1,5 mg/l tidak menunjukkan perbedaan skor kalus yang dihasilkan.

Penambahan BA sebanyak 1mg/l pada berbagai konsentrasi 2,4-D yang diteliti menunjukkan bahwa pengaruh macam eksplan terhadap skor ES primer hanya diamati pada konsentrasi 2,4-D 0,5 mg/l dan 1,0 mg/l. Penambahan umur eksplan pangkal daun dari 1 bulan menjadi 2 bulan dapat meningkatkan skor ES secara nyata pada

Tabel 4 Pengaruh Macam Eksplan dan berbagai Komposisi ZPT Terhadap Skor ES Primer

Macam Eksplan	Skor ES Primer					
	K ₁	K ₂	K ₃	K ₄	K ₅	K ₆
M ₁	0,707 a A	0,707 a A	0,707 a A	0,707 a A	0,707 a A	0,707 a A
M ₂	1,206 a B	0,87 a AB	0,846 a A	1,079 a AB	1,127 a B	0,982 a A
M ₃	1,206 b B	0,652 a A	0,879 ab A	1,305 b B	1,776 c C	1,089 ab A
M ₄	1,113 ab B	1,137 ab B	0,824 a A	0,966 ab AB	1,349 b B	1,078 ab A

Keterangan :

Huruf besar di bawah bilangan ke arah vertikal, digunakan untuk membedakan adanya pengaruh macam eksplan. Sedangkan huruf kecil di sisi bilangan ke arah horisontal, digunakan untuk membedakan adanya pengaruh komposisi ZPT.

M: Macam eksplan; M₁: pangkal daun umur 1 bulan; M₂: pangkal daun umur 2 bulan; M₃: ujung akar umur 1 bulan; M₄: ujung akar umur 2 bulan.

K: Komposisi media; K₁: 0,5 mg/l 2,4-D; K₂: 1,0 mg/l 2,4-D; K₃: 1,5 mg/l 2,4-D; K₄: 0,5 mg/l 2,4-D + 1mg/l BA; K₅: 1 mg/l 2,4-D + 1mg/l BA; K₆: 1,5 mg/l 2,4-D + 1mg/l BA.

konsentrasi 1,0 mg/l 2,4-D, tetapi tidak nyata pada konsentrasi 0,5 mg/l. Penambahan umur eksplan ujung akar dari 1 bulan menjadi 2 bulan menunjukkan penurunan skor ES secara nyata pada konsentrasi 1,0 mg/l 2,4-D, tetapi tidak nyata pada konsentrasi 0,5 mg/l 2,4-D. Penggunaan eksplan ujung akar umur 1 bulan menunjukkan hasil skor ES tertinggi pada 1 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BA (Tabel 5.).

Meskipun sebagian besar jaringan muda selalu mempunyai potensi morfogenetik yang tinggi bila digunakan sebagai eksplan, tetapi tidak demikian pada tanaman *Leek*. Seperti pada tanaman *Solanum laciniatum* (Wattimena, 1992), kalus dari daun tua mampu membentuk tunas dengan cepat, sedangkan yang dari daun muda yang belum berkembang penuh pembentukan tunasnya sangat lambat. Pada tanaman *Leek* yang memiliki batang roset, pangkal daun (*leaf base*) yang diketahui paling mudah membentuk ES. Eksplan pangkal daun umur 2 bulan menghasilkan skor ES yang lebih baik dibandingkan eksplan umur 1 bulan. Penggunaan komposisi ZPT yang berbeda semakin menunjukkan pengaruh macam eksplan ini, dimana dengan komposisi ZPT yang seimbang (1,0 mg/l 2,4-D + 1,0 mg/l BA) eksplan pangkal daun umur 2 bulan menghasilkan skor ES yang nyata lebih tinggi dibandingkan eksplan umur 1 bulan (Tabel 4).

Pada Tabel 5 juga menunjukkan bahwa pada penggunaan eksplan ujung akar, penambahan umur eksplan menjadi 2 bulan menurunkan skor ES secara nyata pada komposisi ZPT seimbang (1,0 mg/l 2,4-D + 1,0 mg/l BA) dan tidak nyata pada komposisi ZPT 0,5 mg/l 2,4-D + 1,0 mg/l BA. Hal tersebut diduga dengan penambahan umur pada eksplan ujung akar, maka umur fisiologis eksplan akan bertambah, yang akan berpengaruh terhadap kemampuan sel-selnya untuk membelah dan berdiferensiasi.

Pengaruh komposisi ZPT pada eksplan ujung akar umur 1 bulan dan 2 bulan menunjukkan bahwa dari semua komposisi media yang dicoba, peningkatan skor ES secara nyata hanya ditunjukkan pada komposisi 1,0 mg/l 2,4-D + 1,0 mg/l BA.

Umur eksplan sangat berpengaruh terhadap kemampuan pertumbuhannya. Hal dapat dibuktikan dari hasil penelitian, yang menunjukkan bahwa penambahan umur eksplan pangkal daun dari 1 bulan menjadi 2 bulan dapat meningkatkan skor ES primer, sedangkan penambahan umur eksplan ujung akar dari 1 bulan menjadi 2 bulan cenderung menurunkan skor ES primer. Di duga pada eksplan pangkal daun umur 2 bulan, jaringan pangkal daun selalu dalam keadaan juvenil karena pengaruh dari ZPT yang ada di dalam akar, sedangkan pada ujung akar sudah memasuki tahap dewasa. Di samping itu batang tanaman *Leek* yang roset menjelaskan bahwa dengan bertambahnya umur tanaman maka titik tumbuhnya akan bertambah pula, oleh karena itu dapat disimpulkan bahwa pangkal daun tanaman *Leek* akan selalu dalam keadaan juvenil.

Pertumbuhan dan organogenesis secara *in vitro* sangat tergantung pada keseimbangan antara ZPT endogen dengan ZPT eksogen yang ditambahkan ke dalam medium. Penambahan ZPT dimaksudkan untuk membantu pembelahan dan diferensiasi sel. ZPT yang diperlukan untuk membentuk ES dari masing-masing umur eksplan berbeda-beda konsentrasinya. Pada tanaman *Pelargonium*, untuk membentuk ES dari eksplan batang umur 2 minggu memerlukan 5 mg NAA/l + 5 mg kinetin/l, namun konsentrasi ini akan menghambat pada eksplan umur 2 tahun (Wattimena, 1992). Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian dan hipotesis yang menyebutkan bahwa penambahan BA pada konsentrasi 1 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BA mampu meningkatkan skor ES primer dibandingkan penggunaan 2,4-D saja.

Hasil analisis regresi kombinasi terhadap skor kalus primer menunjukkan bahwa pada perlakuan 1,0 mg/l 2,4-D + 1,0 mg/l BA dengan eksplan ujung akar umur 1 bulan mampu memberikan skor ES primer tertinggi. Dengan demikian, kombinasi perlakuan terbaik pada penelitian ini adalah 1,0 mg/l 2,4-D + 1,0 mg/l BA dengan menggunakan eksplan ujung akar umur 1 bulan.

Tabel 5. Pengaruh Macam Eksplan dan berbagai Komposisi ZPT Terhadap Skor ES Tersier

Macam Eksplan	Skor ES Tersier					
	K ₁	K ₂	K ₃	K ₄	K ₅	K ₆
M ₁	0,707 a A	0,707 a A	0,707 a A	0,707 a A	0,707 a A	0,707 a A
M ₂	1,124 a B	0,765 a AB	0,827 a A	0,955 a A	1,087 a B	0,868 a A
M ₃	1,602 b C	1,093 a B	1,213 ab B	1,495 b B	2,024 c C	1,404 ab B
M ₄	1,064 a AB	1,09 a B	0,801 a A	0,916 a A	1,237 b B	1,057 a AB

Keterangan :

Huruf besar di bawah bilangan ke arah vertikal, digunakan untuk membedakan adanya pengaruh macam eksplan. Sedangkan huruf kecil di sisi bilangan ke arah horizontal, digunakan untuk membedakan adanya pengaruh komposisi ZPT.

M: Macam eksplan; M₁: pangkal daun umur 1 bulan; M₂: pangkal daun umur 2 bulan; M₃: ujung akar umur 1 bulan; M₄: ujung akar umur 2 bulan.

K: Komposisi media; K₁: 0,5 mg/l 2,4-D; K₂: 1 mg/l 2,4-D; K₃: 1,5 mg/l 2,4-D; K₄: 0,5 mg/l 2,4-D + 1mg/l BA; K₅: 1 mg/l 2,4-D + 1mg/l BA; K₆: 1,5 mg/l 2,4-D + 1mg/l BA

KESIMPULAN

1. Ujung akar umur 1 bulan merupakan eksplan yang paling baik untuk menginduksi kalus embriogenik.
2. Komposisi 1,0 mg/l 2,4-D + 1,0 mg/l BA merupakan komposisi zat pengatur tumbuh yang paling tepat untuk menginduksi kalus embriogenik.
3. Eksplan ujung akar umur 1 bulan dan zat pengatur tumbuh dengan komposisi 1,0 mg/l 2,4-D + 1,0 mg/l BA merupakan interaksi yang paling baik untuk menginduksi kalus embriogenik

DAFTAR PUSTAKA

- Anil Khar, Devi A.A., Lawande K.E., 2005. *Callus culture and regeneration from root tip of garlic (Allium sativum L.)*. Journal of Spices and Aromatic Crops, 14(1): 51-55.
- Dinarti Diny, Purwito Agus, Susila Anas Dinurrohman, 2007. *Optimalisasi Daya Regenerasi dan Multiplikasi Tunas In Vitro Bawang Merah untuk Mendukung Penyediaan Bibit Berkualitas*. Dept. Agronomi Hortikultura, IPB.
- Edy Akari dan Pujiswanto Hidayat, 2008. *Pengaruh 2,4-D terhadap Induksi Embrio Somatik Eksplan Leaflet pada Beberapa Varietas Kacang Tanah (Arachis hypogaea L.) Secara In Vitro*. Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi-II 2008, Universitas Lampung.
- Fetrina Oktavia, Siswanto, Asmini Budiani dan Sudarsono, 2003. *Embriogenesis Somatik Langsung dan Regenerasi Planlet Kopi Arabika (Coffea arabica) dari berbagai Eksplan*. Menara Perkebunan 71(2), 44-55.
- Gunawan L.W., 1988. *Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan*. IPB, Bogor.
- George E.F. and Sherington P.D., 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture In. Handbook and Directory of Commercial Laboratories*. Exegetic Ltd., London. P. 475.
- Hendaryono Daisy P., dan Wijayani Ari, 1994. *Teknik Kultur Jaringan*. Kanisius, Yogyakarta.
- Ibrahim Meynarti S.D., Kristina N. Nova, dan Bermawie Nurliani, 2004. *Studi Pendahuluan: Induksi Kalus Embriogenik dari Eksplan Daun Echinacea purpurea*. Buletin Tro Vol. XV No. 2.
- Oggema J.N., Kinyua M.G., Ouma J.P., and Owuoche J.O., 2007. *Optimum 2,4-D concentration suit-*

- able for embryogenic callus induction in local Kenyan sweetpotato cultivars. *Asian Journal of Plant Science* 6: 484-489
- Salisbury Frank B., 1995. *Fisiologi Tumbuhan jilid 3*. ITB, Bandung.
- Smith Roberta H., 2000. *Plant Tissue Culture*. Academic Press.
- Sukmadjaja Deden, 2005. *Embriogenesis Somatik Langsung pada Tanaman Cendana*. *Jurnal Bioteknologi Pertanian* Vol 10, No 1.
- Van Der Valk P., Scholten O.E., Verstappen F., Jansen R.C & Dons J.J.M., 1992. *High frequency Somatic Embriogenesis and Plant Regeneration from Zygotic Embryo-derived Callus Cultures of Three Allium Species*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 30:181-191.
- Wattimena G.A, 1992. *Bioteknologi Tanaman*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Bioteknologi, IPB.
- Wetter L.R., dan Constabel F., 1991. *Metode Kultur Jaringan Tanaman*. ITB, Bandung.
- Widoretno Wahyu, Arumningtyas Estri Laras, dan Sudarsono, 2003. *Metode Induksi Pembentukan Embrio Somatik dari Kotiledon dan Regenerasi Planlet Kedelai Secara In Vitro*. *Hayati* hlm 19-24 Vol 10, No 1.
- Zulkarnain, 2009. *Kultur Jaringan Tanaman*. Bumi aksara, Jakarta.

