

JURNAL BIOSAINS DAN BIOTEKNOLOGI INDONESIA

ISSN : 1412-0984

INDONESIAN JOURNAL FOR BIOSCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

Genetic Mapping of Trait for Oil Content using Rekombinant Inbred Lines of Soybean (<i>Glycne max</i> (L.) Merrill)	Teuku Tajuddin	42 - 47
Isolasi dan Klon Gen <i>cobU</i> dari <i>Pseudomonas denitrificans</i> ke dalam <i>Escherichia coli</i> JM109	Danang Waluyo dan Laily Nur Inayah	48 - 53
Induksi Kalus Eboni (<i>Diospyros celebica</i> Bakh) pada Eksplan Daun: Uji Lanjut Perbandingan Madia Tumbuh	Karyanti, Juwartina Ida Royani dan Yusuf Sigit Ahmad Fauzan	54 - 59
Multiplikasi Tunas Bawang Merah (<i>Allium ascalonicum</i> cv. Sumenep) pada Beberapa Taraf Media Dasar MS dan 2iP Secara <i>In Vitro</i>	Sigit Budi Santoso, Memen Surahman, dan Agus Purwito	60 - 65
Pengaruh Maltosa terhadap penurunan Kualitas Spermatozoa Asal Epididimis Ternak Domba	Herdis	66 - 70
Screening of Native Promoter from Acetic Acid Bacteria and Comparison Their Expression Level in <i>Acetobacter Pasteurianus</i> and <i>Escherichia coli</i>	Abdul Latif	71 - 75
Aktivitas Jamur Endofitik Sebagai Antijamur Patogen Yang Dipengaruhi Oleh Tepung Kedele Dan Berbagai Jenis Pepton Sebagai Sumber Nitrogen	Nuki Bambang Nugroho, Nurhelmi Djamaan	76 - 79
Utilization of Sago palm Fibrous Residue for Cellulase (avicelase and CMC-ase) Production by <i>Penicillium brunneum</i> No, 24	Nadirman Haska	80 - 83
Informasi Teknik Kultur Jaringan pada Anggrek Cattleya	Laela Sari	84 - 87
<i>Phalaenopsis gigantea</i> - Si Anggrek Raksasa Asli Indonesia yang Hampir punah	Roni Kartiman, Syarifah Iis Aisyah, dan Djauhar Asiki	88 - 92
PEDOMAN PENULIS JURNAL		93 - 94

Multiplikasi Tunas Bawang Merah (*Allium ascalonicum* cv. Sumenep) pada Beberapa Taraf Media Dasar MS dan 2iP Secara *In Vitro*

Shoot Multiplication of Shallot (*Allium ascalonicum* cv. Sumenep) on Several Concentration of MS Culture Medium and 2iP via *In Vitro*

Sigit Budi Santoso¹, Memen Surahman², Agus Purwito²

¹Balai Pengkajian Bioteknologi, BPPT, Gedung 630 – Kawasan Puspitek, Serpong, Tangerang 15314

²Departemen Budidaya Pertanian, Faperta, IPB, Jl. Meranti Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680

Abstract

Two experiments were conducted to multiply shallot *in vitro*. The objectives of the experiment were to obtain the optimum concentration of MS culture medium and 2iP as a growth regulator in shoot multiplication on the first culture (experiment I) and the second culture (experiment II). Both experiments were used four difference strengths of MS medium (0.5x; 1.0x; 1.5x; 2.0x) and four levels of 2iP (2 mg/l; 4 mg/l; 6 mg/l; 8 mg/l). The results of experiments showed high shoot multiplication rates on the first culture compared to the second culture. Medium containing 1.0x strength of MS and high level of 2iP was the most effective on shoot production in the first culture. Culture medium 1.0x MS produced 3.5 shoot per explant, while 2iP provide the highest average shoot per explant that was 4.7 shoots. The second experiment resulted in low shoot multiplication rates and there were no significant difference caused by both factors. Root proliferation was higher in the second culture compared to the first culture, with 1.0x MS resulted in the highest root production that was 1.8. Growth regulator 2iP had no significant effect on root production. The best medium for multiplication of shallot was 1.0x strength MS with 8 mg/l 2iP which resulted in the highest shoot production in the first culture.

Key words: *Allium ascalonicum*, 2iP (N⁶-2-isopentanyl adenine), MS Culture Medium, shoot multiplication.

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Bawang merah merupakan komoditi holtikultura yang memegang peranan penting dalam industri sayuran di Indonesia. Sebagai sayuran rempah, bawang merah banyak dibudidayakan oleh petani di seluruh Indonesia. Menurut Permadi dan Van der Meer (1995) umbi bawang merah dalam 100 gram mengandung 88g air, 1.5g protein, 0.3g lemak, 9.0g karbohidrat, 0.7g serat, 0.8mg Fe, 36mg Ca, 40mg P dan beberapa jenis vitamin. Energi yang dihasilkan sekitar 160 kJ/100g. Menurut Rubatzky dan Yamaguchi (1998) umbi bawang merah juga mengandung allisin, flavonol, kuersetin dan kuersetin glikosida yang dapat dicerna oleh tubuh dalam kadar tinggi, yaitu sekitar 200-1,000 mg/kg. Semua senyawa ini bersifat anti bakteri dan anti cendawan, dan dikatakan menunjukkan aktivitas enzim anti kanker dan bersifat anti koagulan.

Produksi bawang merah dalam skala penelitian sudah mencapai 17 ton/ha sedangkan produksi nasional masih dibawah 10 ton/ha. Rendahnya produksi ini diduga karena bibit yang digunakan berasal dari bawang merah konsumsi yang telah lama disimpan. Salah satu cara meningkatkan produksi adalah dengan penggunaan bibit yang baik. Bibit dapat berasal dari TSS (*True Shallot Seed*) atau umbi hasil seleksi (Putrasamedja, 1995).

Menurut Rukmana (1994) pengendalian hama dan penyakit yang kurang memadai, belum banyak tersedia varietas atau kultivar unggul yang cocok dengan lingkungan setempat, paket teknologi budidaya hasil penelitian yang belum menyebar luas adalah sebab-sebab lain yang mengakibatkan produktivitas bawang merah rendah.

Perbanyakan tanaman secara generatif dengan benih mempunyai beberapa keuntungan, yaitu memperbesar ukuran umbi, kesehatan tanaman lebih terjamin, meminimalkan penyakit akibat virus dan harga TSS lebih murah (Permadi dan Van der Meer, 1995). Walaupun demikian perbanyakan secara generatif juga memiliki kelemahan, yaitu lebih sulit memelihara tanaman pada saat persemaian, hasil panen lebih rendah karena sifatnya heterozygot. Satu tanaman hanya menghasilkan 1 umbi. Karena keturunan tidak seragam sehingga biasanya diperbanyak dengan umbi (Permadi dan Van der Meer, 1995; Rubatzky dan Yamaguchi, 1998). Menurut Wattimena *et al.* (1992) keuntungan perbanyakan bibit bawang dengan kultur jaringan diantaranya adalah: menghasilkan propagula (bibit) dalam jumlah banyak dalam waktu singkat dan menghasilkan bibit bebas penyakit.

Penelitian tentang media dan komposisi zat pengatur tumbuh yang sesuai untuk perbanyakan bawang telah banyak dilakukan. Hussey (1978) menggunakan media MS dengan BA (4.4-17.8 µM) dan 2iP (4.9-19.7 µM) dikombinasikan dengan NAA

+) Penulis untuk Korespondensi, Telp. +62-021-7560562,
ext. 1555; Fax. +62-021-7560208
Email: taste_kicks@yahoo.com

(0.6-2.7 μM) pada *onion* (*Allium cepa* L.). Eksplan berupa 1 mm *basal plate* dengan 10-15 mm tunas primer dan dipotong longitudinal. Planlet menghasilkan 3-5 tunas aksilar dan 20-30 tunas adventif. Multiplikasi tampak pada minggu 4-6 setelah tanam. Havráněk *dalam* Novak *et al.* (1986) berhasil mendapatkan 87% tanaman bawang putih (*A. sativum* L.) bebas virus GMV (*Garlic Mosaic Virus*) pada media MS yang mengandung NAA 5.4 μM dengan ukuran eksplan 0.4-0.6 mm

Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui dan mempelajari pengaruh media dasar MS dan 2iP terhadap pertumbuhan, pembentukan dan perkembangan tunas bawang merah (*A. ascalonicum*) cv. Sumenep secara *in vitro* pada kultur I (percobaan I) dan subkultur (percobaan II).

BAHAN DAN METODE

Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di laboratorium kultur jaringan, Departemen Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Darmaga Bogor. Penelitian dilakukan dari bulan Agustus sampai dengan November 2003.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah *basal plate* bawang merah kultivar Sumenep hasil sterilisasi. Bahan untuk membuat media yaitu larutan stok MS (Murashige & Skoog), agar-agar, sukrosa, 2iP, NAA. Bahan sterilisasi yaitu deterjen bubuk, bakterisida (Agrept), fungisida (Dithane M-45), NaClO_4 (klorox), Betadine cair, Tween 20 dan spiritus.

Alat-alat yang digunakan yaitu timbangan analitik, kompor gas, oven, *autoclave*, pH elektronik paper (pHep), panci, labu takar, botol kultur, gelas piala, pipet, pengaduk, erlenmeyer, plastik, karet gelang. Di dalam ruang tanaman diperlukan *laminar air flow cabinet*, alat tanam (gunting, spatula, pinset, scapel), cawan petri, sprayer tangan, pembakar spiritus. Selain itu diperlukan rak-rak kultur, lampu *fluorescent* (1000-2000 lux), kamera.

Metode Penelitian

Penelitian ini terdiri dari dua percobaan, yaitu 1) percobaan kultur I dan, 2) percobaan subkultur. Keduanya menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 ulangan. Kedua percobaan ini mendapat perlakuan yang sama. Perlakuan terdiri dari dua faktor yaitu konsentrasi media dasar MS dan konsentrasi 2iP. Konsentrasi media dasar MS terdiri dari empat taraf yaitu, 0.5x; 1.0x; 1.5x; 2.0x MS. Faktor kedua adalah 2iP terdiri dari empat taraf yaitu 2 mg/l; 4 mg/l; 6 mg/l; 8 mg/l sehingga terdapat 16 perlakuan. Setiap ulangan terdiri dari satu botol dengan satu eksplan.

Model matematika yang digunakan untuk pengolahan data adalah sebagai berikut.

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Keterangan:

Y_{ijk} = Respon perlakuan

μ = Rataan umum

α_i = Perlakuan MS pada taraf ke-i (i = 1, 2, 3, 4)

β_j = Perlakuan 2iP pada taraf ke-j (j = 1, 2, 3, 4)

$(\alpha\beta)_{ij}$ = Interaksi perlakuan MS dan 2iP

ε_{ijk} = Galat percobaan

Data hasil pengamatan diuji ragamnya, kemudian untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan, perlakuan yang berbeda nyata diuji lebih lanjut menggunakan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf uji 5 %.

Pelaksanaan Penelitian

Sterilisasi

Sterilisasi dilakukan untuk mendapatkan eksplan berupa *basal plate* yang steril. Umbi direndam dalam fungisida dan bakterisida kemudian ditanam pada media prekondisi (MS 0). Pada percobaan II, tidak dilakukan sterilisasi karena eksplan didapat dari kultur sebelumnya yang telah steril.

Pembuatan Media

Larutan stok MS yang telah tersedia kemudian dipipet sesuai dengan konsentrasi yang dibutuhkan. Kedua percobaan menggunakan NAA 0.5 mg/l pada setiap perlakuan. Sitokinin berupa 2iP ditambahkan sesuai perlakuan. Kemudian media diamati setiap hari selama 3 hari untuk melihat ada tidaknya kontaminasi.

Persiapan Ruang Tanam

Sterilisasi *laminar air flow cabinet* dilakukan dengan cara disinari lampu ultraviolet (UV) selama 30 menit atau disemprot dengan alkohol 70%. Sewaktu lampu UV dinyalakan kontak langsung dengan anggota tubuh harus dihindari. Setiap alat tanam, cawan petri dan botol kultur yang dimasukkan ke dalam *laminar* terlebih dahulu disemprot alkohol 70% atau spiritus.

Penanaman

Eksplan dicacah mulai dari tunas primer hingga *basal plate* tetapi tidak sampai terbelah. Eksplan ditanam pada media perlakuan dan diamati setiap hari selama satu minggu untuk melihat kontaminasi. Jika memungkinkan dilakukan sterilisasi ulang dengan klorox.

Pengamatan

Pengamatan dilakukan terhadap peubah-peubah antara lain: jumlah tunas, jumlah daun, jumlah akar, panjang daun dan panjang akar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Percobaan I

Jumlah Tunas

Perlakuan konsentrasi MS dan 2iP berpengaruh nyata pada peubah jumlah tunas, tetapi interaksi keduanya tidak berpengaruh nyata. Jumlah tunas mulai berpengaruh nyata pada 2 MST (Minggu Setelah Tanam) untuk perlakuan konsentrasi MS. Jumlah tunas optimum diperoleh pada perlakuan 1.0x MS kemudian menurun dengan meningkatnya konsentrasi. Konsentrasi 1.0x MS menghasilkan rata-rata jumlah tunas terbanyak tetapi tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 0.5x MS. Jumlah tunas terendah dihasilkan oleh konsentrasi 2.0x MS (Tabel 1)

Tabel 1. Pengaruh konsentrasi media dasar MS terhadap rata-rata jumlah tunas.

Umur	Konsentrasi Media Dasar MS			
	0.5x	1.0x	1.5x	2.0x
2 MST	0.9a	0.7ab	0.6ab	0.4b
6 MST	3.1a	3.1a	2.1ab	1.6b
7 MST	3.4ab	3.5a	2.1bc	1.7c

Keterangan : Nilai yang diikuti oleh huruf yang sama pada baris yang sama tidak berbeda nyata pada DMRT 5%

Pembentukan tunas sudah mulai nampak pada minggu 1 pengamatan, tetapi hanya pada beberapa eksplan saja. Minggu 2 MST tunas terbentuk lebih banyak dari minggu sebelumnya. Hal ini membuat perlakuan konsentrasi media MS berpengaruh nyata pada peubah jumlah tunas. Pembentukan tunas mulai seragam pada 3-4 MST. Sebagian kecil eksplan pada 5 MST membentuk tunas adventif.

Menurut Wattimena *et al.* (1992) secara umum pembentukan tunas *in vitro* baik melalui morfogenesis langsung maupun tidak langsung sangat tergantung pada jenis dan konsentrasi senyawa organik, inorganik dan zat pengatur tumbuh. Namun tidak berarti bahwa suatu kombinasi medium hanya untuk satu jenis tanaman. Menurut Pierik (1987) kombinasi hara makro dan mikro sangat tergantung dari jenis tanaman. Media MS paling banyak digunakan karena memiliki respon yang baik pada berbagai jenis tanaman. Tetapi tidak berarti optimal bagi semua jenis tanaman.

Data pada tabel 1 menunjukkan bahwa konsentrasi diatas 1.0x MS akan semakin menghambat pembentukan tunas. Gerbera contohnya adalah tanaman yang peka terhadap garam mineral. Tetapi pada spesies tertentu meningkatkan garam mineral dapat meningkatkan pertunasan. Luciani *et al.* (2000) meningkatkan rasio $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ pada media BDS menjadi 35 mM NO_3^- : 8 mM NH_4^+ dan mendapatkan pertunasan yang paling baik pada bawang putih (*A. sativum* L.).

Tabel 2. Pengaruh konsentrasi 2iP terhadap rata-rata jumlah tunas

Umur	Konsentrasi 2iP			
	2mg/l	4mg/l	6mg/l	8mg/l
4 MST	1.2b	2.0a	1.2b	1.3b
5 MST	1.5b	2.5a	1.4b	2.0ab
6 MST	1.9b	2.7ab	1.9b	3.4a
8 MST	2.5b	4.0ab	3.4ab	4.7a

Keterangan : Nilai yang diikuti oleh huruf yang sama pada baris yang sama tidak berbeda nyata pada DMRT 5%

Konsentrasi 2iP berpengaruh nyata pada peubah jumlah tunas pada 4, 5, 6 dan 8 MST. Jumlah rata-rata tunas terendah dihasilkan pada perlakuan 2 mg/l sedangkan rata-rata jumlah tunas tertinggi dihasilkan pada konsentrasi 8 mg/l. Konsentrasi 8 mg/l berbeda nyata dengan konsentrasi 2 mg/l tetapi tidak berbeda nyata dengan 4 mg/l dan 6 mg/l (Tabel 2). Zat pengatur tumbuh 2iP merupakan jenis sitokinin yang berperan dalam merangsang

pembelahan sel dalam jaringan dan merangsang pembentukan tunas, tetapi menghambat pembentukan akar. Hussey (1978) menggunakan media MS dengan BA (4.4-17.8 μM) dan 2iP (4.9-19.7 μM) dikombinasikan dengan NAA (0.6-2.7 μM) pada *onion* (*A. cepa* L.) dan menghasilkan 20-30 tunas adventif. Data pada Tabel 2 menunjukkan bahwa dengan konsentrasi 2iP yang semakin tinggi akan semakin meningkatkan jumlah tunas. Hal ini menunjukkan bahwa pembentukan tunas masih bisa ditingkatkan dengan meningkatkan konsentrasi 2iP.

Jumlah Daun

Peubah jumlah daun hanya dipengaruhi oleh konsentrasi MS sedangkan konsentrasi 2iP tidak berpengaruh nyata. Konsentrasi MS berpengaruh nyata pada 3, 7 dan 8 MST. Rata-rata jumlah daun terendah pada perlakuan 2.0x MS sedangkan tertinggi pada 1.0x MS. Hasil ini sesuai dengan konsentrasi MS terbaik pada rata-rata jumlah tunas. Rata-rata jumlah daun optimum pada konsentrasi 1.0x MS dan menurun dengan meningkatnya konsentrasi. Rata-rata jumlah daun pada konsentrasi 1.0x MS berbeda nyata dengan konsentrasi 0.5 dan 2.0x MS tetapi tidak berbeda nyata dengan 1.5x MS (Tabel 3)

Tabel 3. Pengaruh konsentrasi media dasar MS terhadap rata-rata jumlah daun

Umur	Konsentrasi Media Dasar MS			
	0.5x	1.0x	1.5x	2.0x
3 MST	2.5a	1.9b	1.9b	1.8b
7 MST	6.5a	6.7a	4.8ab	4.5b
8 MST	8.5a	8.9a	6.1ab	5.6b

Keterangan : Nilai yang diikuti oleh huruf yang sama pada baris yang sama tidak berbeda nyata pada DMRT 5%

Banyaknya jumlah daun dipengaruhi oleh jumlah tunas yang terbentuk. Tunas yang terbentuk nantinya akan menjadi daun dengan terlebih dahulu membentuk tunas baru. Semakin banyak tunas maka jumlah daun akan semakin tinggi. Menurut Torres (1989) media kultur harus mengandung sedikitnya 25-60 mM nitrogen inorganik untuk pertumbuhan sel. Nitrat biasanya tersedia pada konsentrasi 25-40 mM, ammonium konsentrasinya antara 2-20 mM. Bila konsentrasi ammonium lebih rendah dari 8 mM bisa merusak atau menurunkan pertumbuhan sel bagi beberapa spesies. Media 1.0x MS mengandung 40 mM NO_3^- dan 29 mM NH_4^+ , pada perlakuan ini merupakan konsentrasi terbaik untuk menghasilkan tunas pada percobaan I.

Faktor lain yang berpengaruh pada jumlah daun adalah suhu dan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT). Yoo *et al.* (1990) mendapatkan hasil jumlah daun tertinggi pada tanaman bawang (*A. cepa* L.) jika disimpan pada suhu 24°C dan ditambah sitokinin. Sedangkan cahaya tidak terlalu berpengaruh pada jumlah daun. Sitokinin berpengaruh pada jumlah daun karena salah satu fungsinya dalam pembelahan sel. Kinetin contohnya

pada konsentrasi 1 μM atau lebih mempunyai korelasi positif dengan jumlah daun.

Panjang Daun

Panjang daun diukur di akhir pengamatan pada 8 MST dengan mengeluarkan planlet dari botol kultur. Perlakuan media dasar 0.5x MS memberikan pengaruh nyata pada peubah panjang daun. Rata-rata panjang daun pada 0.5x MS adalah 8.5 cm dan menurun dengan semakin meningkatnya konsentrasi MS. Konsentrasi 0.5x MS tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 1.0 dan 1.5x MS tetapi berbeda nyata dengan konsentrasi 2.0x MS (Tabel 4). Data pada Tabel 4 menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi MS akan membuat panjang daun semakin rendah. Hal ini dapat disebabkan karena pertumbuhan terhambat oleh kandungan garam mineral yang terlalu tinggi bagi eksplan. Faktor lain yang menyebabkan tanaman tinggi adalah terjadinya dominansi apikal, karena eksplan tidak tercacah dengan sempurna.

Tabel 4. Pengaruh konsentrasi media dasar MS terhadap rata-rata panjang daun.

Umur	Konsentrasi Media Dasar MS			
	0.5x	1.0x	1.5x	2.0x
8 MST	8.4a	7.8a	6.4ab	4.9b

Keterangan : Nilai yang diikuti oleh huruf yang sama pada baris yang sama tidak berbeda nyata pada DMRT 5%

Perakaran

Data pada peubah jumlah akar menunjukkan bahwa kedua perlakuan tidak berpengaruh nyata baik tunggal maupun kombinasinya. Pengamatan pada tunas menunjukkan bahwa hanya 5 dari 80 tunas yang berakar. Hal ini disebabkan karena kandungan sitokinin yang terlalu tinggi bila dibandingkan dengan konsentrasi NAA (0.5 mg/l). Pertumbuhan dan organogenesis secara *in vitro* sangat tergantung pada interaksi antara zat pengatur tumbuh endogenus dengan ZPT jenis yang sama pada media. Menurut Wetherell (1982) kadar sitokinin yang optimal untuk pertumbuhan tunas dapat menghambat pembentukan dan pertumbuhan akar. Hal ini juga menyebabkan akar yang telah tumbuh tidak mampu berelongasi maksimum. Perbandingan sitokinin-auksin yang rendah baik untuk pembentukan akar.

Zheng *et al.* (1999) menunjukkan bahwa dengan penambahan sitokinin (Thidiazuron) 1-5 mg/l menyebabkan penurunan pembentukan akar pada bawang bombay (*A. cepa* L.). Havráněk *dalam* Novak *et al.* (1986) menggunakan media MS mengandung NAA 5.4 μM dan menghasilkan akar pada tunas bawang putih (*A. sativum* L.), tetapi perakaran lebih baik diperoleh pada media tanpa ZPT. Hal ini berarti auksin endogenus pada tanaman sudah cukup tinggi untuk membentuk akar.

Percobaan II

Jumlah Tunas dan Panjang Daun

Peubah jumlah tunas tidak dipengaruhi oleh konsentrasi media MS maupun konsentrasi 2iP dari awal hingga akhir pengamatan. Multiplikasi tunas rendah karena umur eksplan yang digunakan sudah tidak *juvenile* (tua). Eksplan berasal dari kultur yang sudah berumur lebih dari 8 minggu. Hal ini yang menyebabkan kemampuan

membentuk tunas berkurang. Penelitian yang dilakukan oleh Phillips dan Luteyn (1983) terhadap subkultur bawang (*A. cepa* L.) menunjukkan bahwa interval subkultur 8 minggu merupakan waktu yang optimal pada media BDS.

Menurut Wattinema *et al.* (1992) bagian tanaman yang masih muda (*juvenile*) dimana keadaan sel-selnya masih aktif membelah ternyata paling baik untuk eksplan. Pucuk yang diambil dari tanaman dewasa dilaporkan juga memiliki daya multiplikasi lebih lambat dibandingkan tanaman muda. Menurut Hulscher *et al. dalam* Luciani *et al.* (2000) persentase eksplan hidup pada subkultur dihubungkan dengan respon fisiologis eksplan terhadap media dan kandungan ZPT di dalamnya.

Konsentrasi MS dan 2iP tidak berpengaruh nyata pada peubah panjang daun. Meskipun pada percobaan I eksplan dapat tumbuh dengan baik pada media MS. Faktor eksplan yang berumur tua menyebabkan multiplikasi tidak sebesar pada percobaan I sehingga tidak berpengaruh nyata. Faktor lain adalah kandungan sitokinin yang terlalu tinggi. Sitokinin dapat menginduksi tunas aksilar tetapi pertumbuhannya terganggu sehingga daun menjadi kerdil.

Jumlah Daun

Konsentrasi media dasar MS berpengaruh nyata pada peubah jumlah daun pada 2, 3 dan 5 MST. Rata-rata jumlah daun terbanyak dihasilkan pada perlakuan 0.5x MS sedangkan rata-rata jumlah daun terendah dihasilkan pada konsentrasi 2.0x MS. Konsentrasi 0.5x MS berbeda nyata dengan 2.0x MS tetapi tidak berbeda nyata dengan 1.0x MS dan 1.5x MS (Tabel 5). Menurut Gamborg dan Shyluk (1981) kandungan nutrisi untuk pertumbuhan bervariasi bagi setiap jenis tanaman. Nitrat pada kandungan lebih dari 8 mM menyebabkan penurunan pertumbuhan sel.

Interaksi perlakuan konsentrasi MS dan 2iP berpengaruh nyata terhadap jumlah daun. Rata-rata jumlah daun tertinggi dihasilkan pada kombinasi perlakuan 1.5x MS dan 8mg/l 2iP. Interaksi yang terjadi disebabkan munculnya kalus pada salah satu ulangan dengan perlakuan 1.5x MS dan 8mg/l. Auksin endogenus pada eksplan ternyata cukup tinggi bagi eksplan untuk membentuk kalus. Hal ini juga yang membuat eksplan lebih banyak membentuk akar dibandingkan pada percobaan I.

Tabel 5. Pengaruh konsentrasi media dasar MS terhadap rata-rata jumlah daun.

Umur	Konsentrasi Media Dasar MS			
	0.5x	1.0x	1.5x	2.0x
2 MST	1.5a	1.7ab	1.7ab	1.1b
3 MST	2.0a	1.9a	1.8ab	1.4b
4 MST	2.2a	2.1a	2.1a	1.4b
5 MST	2.6a	2.5a	2.5a	1.6b

Keterangan : Nilai yang diikuti oleh huruf yang sama pada baris yang sama tidak berbeda nyata pada DMRT 5%

Perakaran

Data pada Tabel 6 menunjukkan bahwa konsentrasi media dasar MS mempengaruhi jumlah akar pada eksplan. Jumlah akar optimum dihasilkan oleh konsentrasi 1.0x MS kemudian menurun dengan meningkatnya konsentrasi media MS. Konsentrasi 1.0x MS berbeda nyata dengan 3 konsentrasi lainnya. Pembentukan akar pada media dengan kandungan sitokinin tinggi disebabkan kandungan auksin tinggi dari kultur sebelumnya. Menurut Mullins *et al.* dalam Novak *et al.* (1986) proses subkultur dapat merubah fase fisiologis dan membuat eksplan kembali *juvenile*. Perakaran pada *Tectona grandis* meningkat dari 10% menjadi 60% pada subkultur ke-2. Penelitian ini juga menegaskan bahwa subkultur dapat merejuvenasi jaringan tua dan membuat induksi akar lebih meningkat. Havráněk dalam Novak *et al.* (1986) menunjukkan bahwa pada tanaman bawang putih (*A. sativum*) akar lebih baik tumbuh pada media tanpa ZPT, yang berarti auksin endogenus sudah tinggi. Sitokinin yang terlalu tinggi juga dapat menyebabkan pembentukan akar terhambat.

Tabel 6. Pengaruh konsentrasi media dasar MS terhadap rata-rata jumlah akar.

Umur	Konsentrasi Media Dasar MS			
	0.5x	1.0x	1.5x	2.0x
2 MST	0.6ab	1.0a	0.4b	0.2b
4 MST	1.0ab	1.4a	0.5b	0.3b
6 MST	1.1b	1.8a	0.5b	0.3b
8 MST	1.1ab	1.8a	0.5b	0.3b

Keterangan : Nilai yang diikuti oleh huruf yang sama pada baris yang sama tidak berbeda nyata pada DMRT 5%

Tabel 7. Pengaruh kombinasi media dasar MS dan 2iP terhadap rata-rata jumlah akar pada 6 MST.

MS	Konsentrasi 2iP			
	2mg/l	4mg/l	6mg/l	8mg/l
0.5 x	1.6bc	1.0bc	0.4c	1.2bc
1.0 x	0.4c	3.2a	1.2bc	2.4bc
1.5 x	1.0bc	0.6c	0.2c	0.0c
2.0 x	0.4c	0.0c	0.6c	0.2c

Keterangan : Nilai yang diikuti oleh huruf yang sama pada baris yang sama tidak berbeda nyata pada DMRT 5%

Peubah panjang akar hanya dipengaruhi oleh konsentrasi media dasar MS. Rata-rata panjang akar tertinggi dihasilkan oleh konsentrasi 1.0x MS sedangkan terendah pada 1.5 dan 2.0x MS (Tabel 8). Rata-rata panjang akar sesuai dengan rata-rata jumlah akar dimana kombinasi perlakuan media 1.0x MS dan 4mg/l 2iP menghasilkan rata-rata jumlah akar terbanyak.

Kombinasi antara perlakuan MS dan 2iP terjadi pada 6 MST. Rata-rata jumlah akar tertinggi dihasilkan oleh kombinasi perlakuan media dasar 1.0x MS dan konsentrasi 2iP 4mg/l (Tabel 7). Jumlah akar yang tinggi pada kombinasi tersebut dapat disebabkan karena pada kultur sebelumnya tanaman sudah berakar sehingga lebih mudah untuk membentuk akar kembali.

Tabel 8. Pengaruh konsentrasi media dasar MS terhadap rata-rata panjang akar.

Umur	Konsentrasi Media Dasar MS			
	0.5x	1.0x	1.5x	2.0x
8 MST	1.0a	1.1a	0.3b	0.1b

Keterangan : Nilai yang diikuti oleh huruf yang sama pada baris yang sama tidak berbeda nyata pada DMRT 5%

DAFTAR PUSTAKA

- Gamborg, O. L. and J. P. Shyluk. 1981. Nutrition media and characteristics of plant cell and tissue cultures. *In: Threvor A. Thorpe (Ed). Plant Tissue Cultures, Methods and Applications in Agriculture.* Academic Press. New York. p 21-44.
- Hussey, G. 1978. *In vitro* propagation of the onion *Allium cepa* by axillary and adventitious shoot proliferation. *Scientia Horticulturae* 9:227-236.
- Luciani, G. F., P. A. Marinangeli, and N. R. Curvetto. 2000. Increasing nitrate/ammonium ratio for improvement of garlic micropapagation. *Scientia Horticulturae* 87:11-20.
- Novak, F. J., L. Havel, and J. Dolezel. 1986. *Allium*. *In: Handbook of Plant Cell Culture. Techniques and Applications.* Vol. IV. David, A. E., William, R. S., Phillip, V. A., Yasuyuki, Y (Eds). Macmillan Publ. Co. New York. p 419-455
- Permadi, A. H., and Q. P. Van der Meer. 1995. *Allium cepa* L. Cv. Group agregatum. *In: Vegetables, Prosea Foundation.* Bogor. p 64-68
- Phillips, G. C. and K. J. Luteyn. 1983. Effects of picloram and other auxins on onion tissue cultures. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 108 (6): 948-953.
- Pierik, R. L. M. 1987. *In Vitro Cultures of Higher Plants.* Martinusnijhoff publ. Boston. 344 p.
- Putrasamedja, S. 1995. Cara memproduksi benih bawang merah melalui biji (TSS). *Dalam: Prosiding Seminar Ilmiah Nasional Komoditas Sayuran.* Balai Penelitian Tanaman Sayuran. 24 Oktober 1995. Hal 207-209.
- Rubatzky, V. E., dan M. Yamaguchi. 1998. Sayuran Dunia 2. Prinsip, Produksi, dan Gizi. Terjemahan Catur Herison. ITB. Bandung. 292 hal.
- Rukmana, R. 1994. Bawang Merah. Budidaya dan Pengolahan Pasca Panen. Kanisius. Yogyakarta. 72 hal.

- Torres, K. C. 1989. Tissue Culture Techniques for Horticultural Crops. Sigma Chemical Company Tissue Culture Report. St. Louis, Missouri. Chapman & Hall. New York. 285 p.
- Wattimena, G. A., L. W. Gunawan, N. A. Mattjik, E. Syamsudin, N. M. A. Wiendi, dan A. Ernawati. 1992. Bioteknologi Tanaman. Pusat Antar Universitas. IPB. Bogor. 305 hal.
- Wetherell, D. F. 1982. Pengantar Propagasi Tanaman Secara *In Vitro*. Terjemahan Kusumaningdyah. IKIP. Semarang Press. 105 Hal.
- Yoo, K. S., L. M. Pike, and B. G. Cobb. 1990. Promotion of *in vitro* leaf growth of onion bulb. Hort.Sci. 25 (2): 228-229.
- Zheng, S., B. henken, E. Sofiari, P. Keizer. E. Jacobsen., C. Kik and F. Krens. 1999. Effects of cytokinins and plant regeneration from long-term callus and suspension cultures of *Allium cepa* L. Euphytica 108: 83-90.