

**PERTUMBUHAN DAN PERKEMBANGAN JARINGAN MERSITEM BAWANG MERAH
(*Allium ascalonicum* L.) KULTIVAR KATUMI SECARA *IN VITRO***

**THE GROWTH AND DEVELOPMENT OF MERISTEM TISSUES OF SHALLOT (*Allium
ascalonicum* L.) *cv.* KATUMI *IN VITRO***

Lamro Purba^{1*} Erni Suminar^{2*} Denny Sobardini^{2*} Wieny Rizky^{2*}, Syariful Mubarak^{2*}

¹Mahasiswa Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Unpad
Jl. Raya Bandung – Sumedang KM. 21 Jatinangor

²Staf Pengajar Departemen Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian Unpad
Jl. Raya Bandung – Sumedang KM. 21 Jatinangor

Korespondensi : erni.suminar@unpad.ac.id

Diterima 25 Mei 2017 / Disetujui 26 Desember 2017

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dan mendapatkan konsentrasi terbaik pengaruh interaksi kinetin dan NAA dalam menginduksi tunas, mengetahui pengaruh zat pengatur tumbuh dalam media induksi terhadap pertumbuhan tunas dalam media MS₀ dan jumlah akar terbanyak dalam media pengakaran pada bawang merah secara *in vitro*. Percobaan dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Teknologi Benih Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran, pada bulan Januari 2011 sampai Mei 2011. Percobaan ini terdiri dari 3 tahap, yaitu tahap induksi tunas, tahap subkultur tunas ke dalam media MS₀ dan subkultur tunas ke dalam media pengakaran. Metode percobaan yang digunakan pada tahap induksi tunas adalah rancangan acak lengkap (RAL) pola faktorial dengan tiga ulangan. Faktor pertama adalah konsentrasi kinetin yang terdiri dari empat taraf, yaitu: 0; 1; 2; dan 3 mg L⁻¹. Faktor kedua adalah konsentrasi NAA yang terdiri dari tiga taraf, yaitu: 0; 0,01 dan 0,1 mg L⁻¹. Media dasar yang digunakan untuk setiap perlakuan adalah MS. Hasil percobaan menunjukkan terjadinya interaksi antara kinetin dan NAA pada tahap induksi tunas terhadap tinggi planlet, jumlah daun, dan pertumbuhan tunas. Perlakuan terbaik diperoleh pada interaksi konsentrasi kinetin 2 mg L⁻¹ tanpa NAA untuk variabel jumlah daun dan perlakuan kinetin 2 mg L⁻¹ dengan 0,01 mg L⁻¹ NAA memberikan pengaruh interaksi lebih baik pada variabel pertumbuhan tunas. Pada variabel tinggi planlet, pengaruh 1 mg L⁻¹ kinetin terhadap NAA 0,01 mg L⁻¹ memberikan respon yang terbaik.

Kata kunci : *Allium ascalonicum* L, *In Vitro*, Kinetin, NAA.

ABSTRACT

This study aimed to know and obtain the best concentration of kinetin and NAA interaction effect in influencing the shoot induction, knew how the plant growth regulators in induction media affected the increasing of shoot in the MS₀ media and knew the largest number of roots in rooting media for shallot *in vitro*. The experiment was conducted at Laboratory of Tissue Culture Seed Technology, Faculty of Agriculture, Universitas Padjadjaran,

from January 2011 to May 2011. This experiment divided into 3 stages, i.e. shoot induction stage, shoot subculture on MS₀ media stage and shoot subculture on rooting media stage. Experimental method used in the shoot induction stage was factorial completely randomized design with three replications. The first factor was kinetin concentration with four levels, i.e. 0, 1, 2 and 3 mg L⁻¹. The second factor was NAA concentration with three levels, i.e. 0, 0.01 and 0.1 mg L⁻¹. The basic media was MS for each treatment. The result showed there was interaction between kinetin and NAA in shoot induction stage for the plantlet height, leaf number and increasing shoot traits. The best result for leaf number was gained from interaction of 2 mg L⁻¹ kinetin without NAA, while the treatment of 2 mg L⁻¹ kinetin with 0.01 mg L⁻¹ NAA gave better interaction for increasing shoot trait.

Key words: *Allium ascalonicum* L; *In Vitro*; Plant Growth Regulators.

PENDAHULUAN

Tanaman bawang merah (*Allium ascalonicum* L.) termasuk ke dalam kelompok rempah dan memiliki nilai ekonomi tinggi. Bawang merah umumnya diperbanyak secara vegetatif menggunakan umbi. Perbanyakannya secara vegetatif memiliki kelemahan yaitu membutuhkan bahan tanam yang banyak. Kebutuhan benih bawang merah sebagai bahan tanam di lapangan pun cukup tinggi hingga satu t ha⁻¹ (Budiono, 2003), selain itu tanaman hasil pembiakan vegetatif cenderung rentan terhadap virus yang berasal dari induknya sehingga dapat menurunkan pertumbuhan dan produktivitas tanaman (Permadi, 1995). Infeksi virus yang menyerang bawang merah dapat mengurangi produksi siung antara 25-50% (Walkey *et al.*, 1987).

Penanaman bawang merah di Indonesia menggunakan umbi bibit. Kelemahan bibit asal umbi adalah sering kali membawa penyakit virus yang ditularkan dari tanaman asal yang terserang sehingga produktivitasnya menurun (Sumarni *et al.*, 2005). Biji bawang merah cepat kehilangan vigoritasnya karena endosperm sangat kecil (Putrasamedja, 1995). Kultur

meristem merupakan salah satu teknik kultur jaringan yang menggunakan jaringan meristematik sebagai eksplannya (Karjadi dan Buchori, 2007), banyak digunakan untuk mengeliminasi virus dari suatu tanaman. Ujung meristem digunakan sebagai sumber eksplan yang sangat baik untuk menghasilkan tanaman yang terbebas dari virus karena beberapa alasan diantaranya tidak adanya plasmodesmata dalam *meristem dome*, pembelahan sel yang cepat, adanya zat inhibitor, serta stabilitas genetik yang konsisten (Alam *et al.*, 2010).

Pemilihan media dengan komposisi ZPT yang tepat akan menghasilkan plantlet yang tumbuh sempurna dan lengkap karena ZPT mempengaruhi proses organogenesis pada eksplan (Ayabe dan Sumi, 1998). Penambahan sitokinin dan auksin eksogen pada eksplan dapat merangsang sitokinin dan auksin endogen serta mempengaruhi perkembangan eksplan menjadi plantlet (Pernisova *et al.*, 2009). Sitokinin dapat membantu perkembangan tunas yang berasal dari eksplan meristem dengan baik (Werner dan Schmulling, 2009). Auksin dapat menginduksi inisiasi organ pada meristem apikal (Benkova *et al.*, 2003).

Kinetin mempunyai fungsi antara lain mendorong pembelahan dan pemanjangan sel (Wattimena, 1988) dan Dunlap *et al.*, (1986 diacu Nissen dan Sutter, 1990) menyatakan bahwa 2,4-D dan NAA memiliki stabilitas yang lebih tinggi daripada IAA dalam media MS.

Respon jumlah tunas terbaik ditunjukkan pada perlakuan dengan penambahan 4 mg L⁻¹ kinetin dengan 0 mg L⁻¹ NAA dengan rata-rata sebesar 62,75 tunas/eksplan, sedangkan respon jumlah akar terbaik ditunjukkan pada perlakuan dengan penambahan 2,5 mg L⁻¹ NAA dengan 0 mg L⁻¹ kinetin dengan rata-rata sebesar 37,75 tunas/eksplan (Robbiani *et al.*, 2010).

Perbandingan antara auksin dan sitokinin yang digunakan mempengaruhi pembentukan tunas, akar dalam kultur jaringan (Armini *et al.*, 1991) dan kombinasi sitokinin dan auksin dapat mempercepat pertunasan karena pengaruh sinergi antar ZPT tersebut (Gati, 2007). Penggunaan sitokinin konsentrasi tinggi yang dikombinasikan dengan auksin konsentrasi rendah sangat penting dalam pembentukan tunas (Hartmann *et al.*, 1997). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dan mendapatkan konsentrasi terbaik pengaruh interaksi kinetin dan NAA dalam mempengaruhi induksi tunas, mengetahui kemungkinan zat pengatur tumbuh dalam media induksi masih dapat mempengaruhi pertumbuhan tunas dalam media MS₀ dan jumlah akar terbanyak dalam media pengakaran pada bawang merah secara *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

Percobaan dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Teknologi

Benih Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran di Jatinangor, Sumedang, pada bulan Januari sampai Mei 2011.

Bahan tanam yang digunakan yaitu benih bawang merah varietas Katumi dari Balai Penelitian Tanaman Sayuran Lembang Bandung Barat. Media dasar yang digunakan pada percobaan ini adalah media Murashige dan Skoog (MS). Bahan kimia yang digunakan diantaranya komposisi media MS, zat pengatur tumbuh (kinetin dan *1-Naphthaleneacetic Acid* (NAA)). Bahan lain yang digunakan yaitu agar, *aquadest*, sukrosa, HCl 0,1 N, NaOH 0,1 N, alkohol 96%, alkohol 70%, clorox, sabun anti bakteri, plastik, karet gelang, *tissue* dan label.

Tahap I. Induksi Tunas

Rancangan Percobaan pada tahap induksi tunas adalah rancangan acak lengkap (RAL) pola faktorial dilanjutkan dengan dengan uji jarak berganda Duncan. Perlakuan terdiri dari dua faktor. Faktor pertama yaitu : Kinetin (0, 1, 2, 3 mg L⁻¹) dan faktor kedua yaitu NAA (0, 0,01, 0,1 mg L⁻¹). Setiap perlakuan terdiri dari 6 sampel, dimana masing-masing sampel terdiri atas 2 eksplan jaringan meristem dalam media perlakuan sebanyak 10 ml.

Bahan eksplan yang digunakan untuk perbanyak adalah berupa titik tumbuh (*shoot tip*). Bahan eksplan tersebut berasal dari Balai Penelitian Tanaman Sayuran, Lembang. Sebelum melakukan percobaan bahan eksplan harus disterilisasi terlebih dahulu. Langkah pertama yang harus dilakukan adalah mengupas bawang merah dengan membuang kulitnya dan didapatkan siung bawang merah kemudian siung bawang merah diambil tunas yang mengandung meristem dengan beberapa primordia daun dan tahap selanjutnya

sterilisasi. Eksplan yang mengandung meristem yang sudah disterilisasi dimasukkan ke dalam *laminar air flow cabinet* dan tunas yang akan diambil meristemnya disimpan di dalam petridis sebanyak 4-5 buah. Pemotongan tunas dengan membuang daun satu per satu sampai diperoleh titik tumbuh (*shoot tip*) kemudian dikulturkan dalam botol kultur yang berisi media padat. Pada setiap botol kultur berisi 2 buah eksplan. Botol-botol tersebut ditutup aluminium foil dan diikat karet.

Tahap Subkultur Tunas ke dalam Media MS₀ (Tahap II) dan Media Pengakaran (Tahap III)

Tahap subkultur tunas ke dalam media MS₀ dan media pengakaran, setelah empat minggu tunas yang terbentuk dalam media induksi tunas dipindahkan ke MS₀ selama empat minggu. Kegiatan subkultur yang dilakukan meliputi pemotongan akar yang sudah terbentuk dalam media induksi tunas. Daun yang sudah terbentuk dalam

media induksi tunas juga dipotong. Media yang digunakan adalah media MS tanpa zat pengatur tumbuh pada tahap II dan MS + 2,5 mg L⁻¹ pada tahap III serta penambahan gula 40 g L⁻¹, selanjutnya dikulturkan pada media MS₀ tanpa zat pengatur tumbuh dengan tujuan untuk memberikan kondisi media yang optimal bagi pertumbuhan tanaman selanjutnya agar siap tanam di lapangan.

Data kuantitatif pada parameter utama percobaan dianalisis menggunakan analisis ragam berdasarkan uji F taraf 5%. Apabila terdapat beda nyata dilanjutkan dengan Uji Scott Knott pada taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tinggi Planlet

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa penggunaan kinetin dan NAA memberikan pengaruh yang berbeda nyata (Tabel 1).

Tabel 1 Analisis Ragam Pengaruh Kinetin Dengan NAA Terhadap Rata-Rata Tinggi Planlet, Jumlah Daun dan Jumlah Akar Pada Bawang Merah Pada Tahap Induksi Tunas

Sumber Ragam	db	Tinggi tunas	Jumlah daun	Jumlah akar
Perlakuan				
K	3	87,72*	8,93*	1,12 ^{ns}
N	2	11,78*	4,60*	0,92 ^{ns}
n x k	6	7,40*	3,24*	0,52 ^{ns}

Keterangan : * berbeda nyata pada taraf 5%, ns : tidak berbeda nyata

Berdasarkan hasil uji jarak berganda Duncan 5% yang telah dilakukan diketahui bahwa antara kinetin dengan NAA memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap variabel tinggi planlet. Tabel 2 menunjukkan bahwa perlakuan yang paling efisien yaitu 1 mg L⁻¹ kinetin dan 0,01 mg L⁻¹

¹ NAA. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Duhoky dan Rasheed (2010) bahwa pemberian kinetin yang dikombinasikan dengan NAA dapat merangsang tinggi planlet untuk masing-masing tunas lateral dan terminal. Pertumbuhan dan morfogenesis tanaman

secara *in vitro* dikendalikan oleh keseimbangan dan interaksi dari zat pengatur tumbuh yang ada dalam eksplan baik endogen maupun eksogen yang diserap dari media (Zulfiqar *et al.*, 2009). Pemanjangan sel terjadi karena adanya

proses pembelahan, pemanjangan dan pembesaran sel-sel baru yang terjadi pada meristem ujung sehingga eksplan yang ditanam bertambah tinggi (Gardner *et al.*, 1991).

Tabel 2 Pengaruh Interaksi Kinetin dengan NAA terhadap Rata-rata Tinggi Planlet Bawang Merah pada 4 MST

Kinetin	NAA		
	0 mg L ⁻¹	0,01 mg L ⁻¹	0,1 mg L ⁻¹
	--cm--		
0 mg L ⁻¹	1,194 a A	4,056 a B	1,578 a A
1 mg L ⁻¹	9,667 c A	10,772 d A	10,472 c A
2 mg L ⁻¹	5,472 b B	8,417 c C	2,944 a A
3 mg L ⁻¹	9,306 c B	6,556 b A	6,250 b A

Keterangan : angka yang ditandai oleh huruf besar pada baris yang sama dan huruf kecil pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 5%.

Penambahan NAA 0,01 mg L⁻¹ mampu meningkatkan tinggi planlet , hal ini diduga auksin mampu berperan dalam proses pemanjangan sel. Prahardini *et al.*(1994) menyatakan bahwa pemanjangan tunas merupakan proses yang disebabkan oleh aktivitas auksin karena salah satu peran auksin adalah mendukung terjadinya pemanjangan sel. Peningkatan konsentrasi NAA yang digunakan diduga menjadi penghambat tinggi planlet. Auksin dalam konsentrasi rendah dapat menstimulasi pembesaran dan perpanjangan sel setelah terjadinya pembelahan sel yang distimulir oleh sitokinin, tetapi apabila konsentrasi auksin yang digunakan terlalu tinggi, akan menyebabkan terhambatnya pemanjangan sel (Karjadi dan Buchory, 2007). Semakin tinggi konsentrasi auksin maka konsentrasi etilen yang dihasilkan akan semakin tinggi

sehingga menyebabkan terhambatnya aktivitas auksin dalam perpanjangan sel, tetapi akan meningkatkan pelebaran sel (Ayabe dan Sumi, 1998) dan kultur tanaman di dalam wadah dapat meningkatkan akumulasi produksi etilen yang menghambat pertumbuhan akibat terjadinya vitrifikasi dan penuaan pada pucuk-pucuk muda (George dan Sherrington, 1984).

Jumlah Daun

Berdasarkan hasil analisis sidik ragam menunjukkan adanya interaksi antara kinetin dan NAA terhadap peubah jumlah daun (Tabel 1). Perlakuan konsentrasi kinetin sebesar 2 mg L⁻¹ tanpa penambahan NAA (Tabel 3) memberikan hasil terbaik pada jumlah daun per eksplan dan perlakuan ini berbeda nyata dengan

pengaruh perlakuan konsentrasi yang lain. Ini membuktikan terbentuknya daun dapat dipacu dengan kinetin tanpa penambahan auksin.

Pemberian sitokinin pada taraf kinetin 2 mg L⁻¹ tanpa penambahan auksin menunjukkan jumlah daun lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya yang ditambah auksin, hal ini sejalan dengan pernyataan Yunus (2007), penambahan auksin dan sitokinin secara bersamaan bersifat menghambat jumlah daun, diduga kandungan nitrogen dalam sitokinin berperan untuk proses sintesis

asam-asam amino dan protein secara optimal yang selanjutnya digunakan untuk proses pertumbuhan dan perkembangan eksplan dalam hal ini pembentukan daun (Gardner *et al.*, 1991). Kinetin termasuk golongan sitokinin yang dapat memacu pembelahan sel dan meningkatkan aktivitas auksin endogen (Nisa dan Rodinah, 2005). Sitokinin mempunyai dua peran penting untuk propagasi secara *in vitro* yaitu merangsang pembelahan sel dalam jaringan pada eksplan dan merangsang pertumbuhan tunas serta daun (Wetherell, 1982).

Tabel 3 Pengaruh Interaksi Kinetin dengan NAA terhadap Rata-rata Jumlah Daun per Eksplan pada 4 MST

Kinetin	NAA		
	0 mg L ⁻¹	0,01 mg L ⁻¹	0,1 mg L ⁻¹
	--Helai--		
0 mg L ⁻¹	1,667 a A	2,000 a A	1,578 a A
1 mg L ⁻¹	2,944 ab A	3,444 a A	2,833 a A
2 mg L ⁻¹	5,472 c B	2,500 a A	2,944 a A
3 mg L ⁻¹	3,389 b A	2,444 a A	2,444 a A

Keterangan : angka yang ditandai oleh huruf besar pada baris yang sama dan huruf kecil pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 5%.

Penambahan NAA yang semakin tinggi cenderung menyebabkan rata-rata jumlah daun lebih rendah daripada perlakuan tanpa NAA. Keadaan ini diduga disebabkan peningkatan konsentrasi NAA dapat menghambat pertumbuhan daun (Keller *et al.*, 2004), sedangkan penggunaan sitokinin dengan konsentrasi tinggi yang dikombinasikan dengan auksin konsentrasi rendah sangat penting dalam pembentukan daun (Hartmann *et al.*, 1997). Daun baru yang terbentuk terlihat

lebih tebal dan hijau dibandingkan dengan perlakuan tanpa kinetin dan NAA.

Jumlah Akar

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa tidak terdapat interaksi antara kinetin dan NAA terhadap rata-rata jumlah akar pada media MS dalam kurun waktu 4 MST. Penambahan kinetin maupun NAA secara mandiri pada masing-masing konsentrasi memberikan pengaruh yang sama terhadap jumlah akar (Tabel 1). Pada Tabel 4 menunjukkan bahwa media tanpa

kinetin dan NAA memberikan pengaruh lebih baik terhadap rata-rata jumlah akar dibandingkan perlakuan yang lain.

Tabel 4 Pengaruh Konsentrasi Kinetin dan NAA terhadap Rata-rata Jumlah Akar per Eksplan pada 4 MST

Perlakuan	Rata-rata Jumlah Akar
Kinetin (k)	
$k_0 = 0 \text{ mg L}^{-1}$	0,148 a
$k_1 = 1 \text{ mg L}^{-1}$	0,037 a
$k_2 = 2 \text{ mg L}^{-1}$	0,037 a
$k_3 = 3 \text{ mg L}^{-1}$	0,000 a
NAA (n)	
$n_0 = 0 \text{ mg L}^{-1}$	0,000 a
$n_1 = 0,01 \text{ mg L}^{-1}$	0,083 a
$n_2 = 0,1 \text{ mg L}^{-1}$	0,083 a

Keterangan: Angka yang ditandai oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 5%.

Inisiasi akar sering terjadi setelah kultur jaringan memproduksi pucuk dan perkembangan tunas yang mengubah hormon endogen dalam kultur sehingga merangsang terbentuknya akar (Dodds dan Roberts, 1985). Perlakuan pemberian kinetin dan NAA pada percobaan ini memberikan pengaruh nyata terhadap variabel jumlah akar. Diduga dengan peningkatan sitokinin (kinetin) sampai taraf tertentu akan menurunkan jumlah akar, karena sitokinin lebih cenderung memacu pembentukan tunas dan pemberian NAA sebagai auksin eksogen membuat aktivitas auksin endogen tidak optimal sehingga pembentukan akar jadi terhambat. Peningkatan pemberian sitokinin baik tunggal maupun berinteraksi dengan auksin cenderung bersifat menghambat dalam mempengaruhi pembentukan akar pada eksplan karena menghasilkan rata-

rata jumlah akar yang lebih sedikit (Yunus, 2007).

Kemampuan eksplan pada percobaan ini menghasilkan rata-rata jumlah akar yang lebih banyak terjadi pada perlakuan tanpa penambahan kinetin dan NAA, hal ini diduga karena adanya auksin endogen pada eksplan. Menurut George *et al.* (2007) hormon IAA dapat terbentuk pada tunas muda yang terbentuk. Level zat pengatur tumbuh endogen merupakan salah satu faktor yang mendorong proses pertumbuhan dan morfogenesis (Gunawan, 1992) dan Perlakuan lain yang menghasilkan jumlah akar lebih sedikit diduga inisiasi akar dihambat oleh konsentrasi sitokinin yang tinggi.

Pertambahan Tunas

Pada prinsipnya teknik kultur jaringan didasarkan pada induksi dan penggandaan tunas. Keberhasilan pertumbuhan tunas terutama bergantung pada sumber jaringan, kadar medium hara, dan jenis serta hormon yang dipergunakan (Pramanik dan Rachmawati, 2010). Laju penggandaan tunas melalui percabangan aksilar, dapat ditingkatkan dengan memacu pertumbuhan tunas pada medium yang mengandung sitokinin dari jenis yang sesuai, pada konsentrasi yang tepat, baik dengan, ataupun tanpa auksin (Zulkarnain, 2009).

Berdasarkan analisis statistik, interaksi antara kinetin dan NAA memberikan pengaruh nyata terhadap pertumbuhan variabel jumlah tunas (Tabel 1). Perlakuan kinetin 2 mg L^{-1} dengan NAA 0.01 mg L^{-1} memberikan hasil yang relatif baik terhadap variabel pertumbuhan tunas (Tabel 5). Pertambahan tunas pada perlakuan tanpa kinetin (0 mg L^{-1}) pada berbagai konsentrasi NAA relatif tidak

memberikan hasil sebaik pada konsentrasi dengan penambahan kinetin. Pemberian auksin tanpa sitokinin dapat menyebabkan pertambahan jumlah tunas rendah. Dalam percobaan ini sitokinin mempunyai pengaruh yang penting dalam merangsang

pembelahan sel, pembesaran sel, dan pembentukan tunas. Pemberian konsentrasi kinetin 2 mg L⁻¹ dan NAA 0.01 mg L⁻¹ berpengaruh dalam memacu pembentukan tunas baru.

Tabel 5 Pengaruh Interaksi Kinetin dengan NAA terhadap Rata-rata Pertambahan Tunas pada 4 Minggu Setelah Subkultur

Kinetin	NAA		
	0 mg L ⁻¹	0,01 mg L ⁻¹	0,1 mg L ⁻¹
	--cm--		
0 mg L ⁻¹	0,000 a A	0,000 a A	0,000 a A
1 mg L ⁻¹	0,444 a A	0,333 ab A	0,222 a A
2 mg L ⁻¹	0,000 a A	0,778 b B	0,000 a A
3 mg L ⁻¹	0,111 a A	0,556 b A	0,444 a A

Keterangan : angka yang ditandai oleh huruf besar pada baris yang sama dan huruf kecil pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 5%.

Umumnya penambahan auksin pada media yang mengandung sitokinin dapat meningkatkan aktivitas sitokinin tersebut dalam merangsang penggandaan tunas (George dan Sherrington, 1984). Untuk merangsang pertumbuhan atau penggandaan tunas diperlukan keseimbangan relatif antara sitokinin dan auksin. Tunas yang dihasilkan dari perlakuan kinetin dan NAA atau tanpa zat pengatur tumbuh hanya menghasilkan satu hingga dua tunas dari semua perlakuan yang ada. Pemberian zat pengatur tumbuh dalam konsentrasi yang sesuai dapat meningkatkan morfogenesis tanaman, tetapi apabila zat pengatur tumbuh diberikan dalam konsentrasi yang berlebihan maka akan menjadi penghambat bagi pertumbuhan morfogenesis tanaman (Wetter dan Constabel, 1991) dan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang ditambahkan ke

dalam media kultur sangat berpengaruh terhadap jumlah tunas yang dihasilkan. Pembentukan tunas membutuhkan sitokinin (Yusnita, 2003) dan penambahan sitokinin dapat mendorong meningkatnya jumlah dan ukuran daun (Yelnitis *et al.*, 1991). Sitokinin mempunyai dua peran penting untuk propagasi secara *in vitro* yaitu merangsang pembelahan sel dalam jaringan yang dibuat eksplan dan merangsang pertumbuhan tunas dan daun (Wetherell, 1982).

Subkultur Tunas ke dalam Media MS₀

Media ini dimaksudkan untuk mendorong pertumbuhan tunas-tunas abnormal agar tumbuh menjadi tunas-tunas yang normal. Selain itu diharapkan tunas yang dihasilkan ukurannya bertambah besar sebagai persiapan eksplan pada tahap aklimatisasi. Tunas-tunas yang terbentuk dalam media induksi

tunas selama 4 MST memiliki ukuran yang sangat kecil sehingga perlu dilakukan subkultur ke dalam media MS tanpa pemberian zat pengatur tumbuh untuk pembesaran dan pemanjangan tunas selama 4 minggu. Pada tahap percobaan ini, tunas yang ditanam akan menghasilkan tunas berdaun normal. Media dasar MS memiliki konsentrasi garam-garam mineral dan senyawa N (nitrogen) dalam bentuk NO_3^- dan NH_4^+ yang tinggi (Lakitan, 1996).

Data analisis ragam menunjukkan bahwa rata-rata pertambahan tunas pada sumber media perlakuan yang disubkultur pada media MS_0 dalam kurun waktu 4 minggu setelah subkultur memberikan pengaruh signifikan. Pada tabel 6 menunjukkan bahwa kombinasi media awal 1 mg L^{-1} kinetin dengan $0,01 \text{ mg L}^{-1}$ NAA dan kombinasi media 2 mg L^{-1} kinetin tanpa NAA memberikan pengaruh yang terbaik terhadap rata-rata pertambahan tunas.

Tabel 6 Pengaruh Media Tahap I (Induksi Tunas) terhadap Pertambahan Tunas dalam Media MS_0 pada 4 Minggu Setelah Subkultur

Media Tahap I	Media Subkultur I	Rata-rata Pertambahan Tunas
k_0n_0	MS_0	0,11
k_0n_1	MS_0	0,11
k_0n_2	MS_0	0,11
k_1n_0	MS_0	0,00
k_1n_1	MS_0	0,89
k_1n_2	MS_0	0,44
k_2n_0	MS_0	0,78
k_2n_1	MS_0	0,44
k_2n_2	MS_0	0,11
k_3n_0	MS_0	0,33
k_3n_1	MS_0	0,22
k_3n_2	MS_0	0,00

Pada media MS_0 terlihat masih terjadi pembentukan tunas baru, selain itu

eksplan yang ditanam terlihat bertambah tinggi dan terjadi adanya pembentukan akar. Tunas yang disubkultur kedalam MS_0 menunjukkan adanya pertumbuhan yang ditandai dengan terjadinya pemanjangan sel. Eksplan tunas samping yang ditanam pada media kultur menghasilkan auksin endogen dengan konsentrasi yang cukup tinggi sehingga pertumbuhan eksplan lebih diarahkan pada pemanjangan sel dan pembentukan akar (Pratiwi *et al.*, 2009).

Rata-rata pertambahan tunas paling banyak adalah 0,889 tunas pada media awal 1 mg L^{-1} kinetin dengan 0.01 mg L^{-1} NAA yang disubkultur pada media MS_0 . Hal ini diduga karena pengaruh media pada tahap induksi tunas dan hormon endogen yang dihasilkan oleh sumber eksplan saling melengkapi dengan media baru yang digunakan. Media MS memiliki kandungan garam-garam yang lebih tinggi daripada media lain, disamping kandungan nitratnya yang tinggi (Zulkarnain, 2009) dan keberhasilan pertumbuhan tunas baru terutama bergantung pada sumber jaringan, kadar medium hara, dan jenis serta kadar hormon yang dipergunakan (Pramanik dan Rachmawati, 2010). Sukrosa yang digunakan dalam media MS_0 yaitu 40 g L^{-1} , diduga dengan penambahan sukrosa dapat menyebabkan pembesaran tunas. Sukrosa yang merupakan karbohidrat sebagai cadangan makanan ini akan diubah menjadi pati yang digunakan sebagai energi pada proses morfogenesis eksplan, sehingga dapat membantu sel untuk terus membelah eksplan (Robbiani *et al.*, 2010).

Subkultur Planlet ke dalam Media Pengakaran

Data analisis ragam menunjukkan bahwa pengaruh mandiri perlakuan media awal yang disubkultur pada media

MS+NAA 2,5 mg L⁻¹ tidak memberikan pengaruh yang signifikan pada setiap konsentrasi perlakuan (Tabel 7) terhadap rata-rata jumlah akar.

Pengakaran umumnya dilakukan pada tahap akhir dalam suatu periode perbanyakan kultur jaringan, yaitu apabila jumlah tunas *in vitro* sudah tersedia sesuai dengan jumlah bibit yang akan diproduksi. Apabila perbandingan auksin lebih tinggi

maka akan terjadi induksi akar. Auksin yang terkandung dalam eksplan berperan dalam sintesis nukleotida DNA dan RNA serta sintesis protein dan enzim yang selanjutnya digunakan dalam proses pertumbuhan dan perkembangan pada eksplan (George dan Sherrington, 1984). Pada media perlakuan, umumnya pembentukan akar terjadi setelah tunas terbentuk.

Tabel 7 Pengaruh Media Tahap I (Induksi Tunas) terhadap Rata-rata Jumlah Akar dalam Media Pengakaran (MS + 2.5 mg L⁻¹ NAA) pada 4 Minggu Setelah Subkultur

Media Tahap I	Media Subkultur I	Media Subkultur II	Rata-rata Jumlah Akar
k ₀ n ₀	MS ₀	MS+ 2,5 mg L ⁻¹ NAA	3,000
k ₀ n ₁	MS ₀	MS+2,5 mg L ⁻¹ NAA	1,667
k ₀ n ₂	MS ₀	MS+2,5 mg L ⁻¹ NAA	1,667
k ₁ n ₀	MS ₀	MS+2,5 mg L ⁻¹ NAA	4,000
k ₁ n ₁	MS ₀	MS+2,5 mg L ⁻¹ NAA	4,194
k ₁ n ₂	MS ₀	MS+2,5 mg L ⁻¹ NAA	3,667
k ₂ n ₀	MS ₀	MS+2,5 mg L ⁻¹ NAA	3,067
k ₂ n ₁	MS ₀	MS+2,5 mg L ⁻¹ NAA	1,833
k ₂ n ₂	MS ₀	MS+2,5 mg L ⁻¹ NAA	1,333
k ₃ n ₀	MS ₀	MS+2,5 mg L ⁻¹ NAA	3,000
k ₃ n ₁	MS ₀	MS+2,5 mg L ⁻¹ NAA	2,500
k ₃ n ₂	MS ₀	MS+2,5 mg L ⁻¹ NAA	3,778

Pada percobaan ini, penambahan NAA pada konsentrasi yang sama yaitu sebesar 2,5 mg L⁻¹ mampu menghasilkan rata-rata jumlah akar yang lebih banyak. Pertumbuhan planlet bawang putih yang baik terdapat pada konsentrasi NAA 0-0,25 mg L⁻¹ dan NAA menginduksi akar lebih baik dibandingkan dengan auksin lainnya

(Karjadi dan Buchory 2007; Kurnianingsih *et al.*, 2009).

SIMPULAN

1. Hasil percobaan menunjukkan terjadinya interaksi antara kinetin dan NAA pada tahap induksi tunas terhadap

tinggi planlet, jumlah daun, dan penambahan tunas.

2. Perlakuan terbaik diperoleh pada interaksi konsentrasi kinetin 2 mg L⁻¹ tanpa NAA untuk variabel jumlah daun dan perlakuan kinetin 2 mg L⁻¹ dengan 0.01 mg L⁻¹ NAA memberikan pengaruh interaksi lebih baik pada variabel penambahan tunas. Pada variabel tinggi planlet, pengaruh 1 mg L⁻¹ kinetin terhadap NAA 0.01 mg L⁻¹ memberikan respon yang terbaik.

Daftar Pustaka

- Alam I, S.A. Sharmin, M.K. Naher, M. J. Alam, M. Anisuzzaman and M. F. Alam. 2010. Effect of growth regulators on meristem culture and plantlet establishment in sweet potato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.]. POJ 3(2):35-39.
- Armini, G.A. Wattimena, dan L.W. Gunawan. 1991. Perbanyakan tanaman ha1 12 - 48. dalam Bioteknologi Tanaman I. Wattimena, G.A. dan a1 (ed.). PAU. Bioteknologi IPB. Dirjen Dikti. Dep. P&K.
- Ayabe and Sumi S. 1998. Establishment of a Novel Tissue Culture Method, Stem-disc Culture and Its Practical Application to Micropropagation of Garlic (*Allium sativum* L.). *Plant cell*. Rep. 17: 773-779.
- Budiono, D.P. 2003. Multiplikasi *in vitro* tunas bawang merah (*Allium ascalonicum* L.) pada berbagai taraf konsentrasi air kelapa. *J. Agronomi* 8 (2): 75-80.
- Dodds, J.H. dan Roberts, L.W. 1985. Experiments In Plant Tissue Culture . 2nd edition. Cambridge University Press. Cambridge.
- Duhoky, M. dan K.A.Rasheed. 2010. Effect of different concentrations of kinetin and NAA on micropropagation of *Gardenia Jasminoides*. *Journal of Zankoy Sulaimani* 13(1):103-120.
- Fatima N. and M. Anis. 2012. Role of growth regulators on *in vitro* regeneration and histological analysis in Indian ginseng (*Withania somnifera* L.) *Dunal. Physiol Mol Biol Plants*. 2012 Jan; 18(1): 59–67.
- Gardner FP, RB Pearce and RL Mitchell. 1991. Fisiologi Tanaman Budidaya. UI Press. Jakarta.
- Gati, E. 2007. Aplikasi kultur *in vitro* untuk perbanyakan dan perbaikan tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.). Available at: <http://www.dostoc.com> [5-01-2011].
- George, E.F. and P.D. Sherrington. 1984. Plant Propagation by Tissue Culture. Eastern Press, Reading Berks. 709 p.
- George, E.F., M. A. Hall, and G.J.D. Clerk. 2007. Plant Propagation by Tissue Culture 3rd Edition. Springer, Netherlands. pp. 175 - 178.
- Gunawan, L.W. 1992. Teknik Kultur Jaringan. PAU-IPB. Bogor.
- Hartmann, H.T., D.K. Kester, and F.I. Davies . 1997. Plant Propagation Principles and Practises. Sixth Edition. Prentice Hall Inc. New Jersey. 647 p

- Karjadi, A.K dan A. Buchory. 2007. Pengaruh NAA dan BAP terhadap pertumbuhan jaringan meristem bawang putih pada media B5. *Jurnal Hortikultura*. 17(3):217-223
- Keller C.P, R. Stahlberg, L. S. Barkawi, and J. D. Cohen. 2004. Long-Term Inhibition by Auxin of Leaf Blade Expansion in Bean and Arabidopsis. *Plant Physiol*. Vol. 134: 1217-1226.
- Kurnianingsih, R., Marfuah, dan Matondang. 2009. Pengaruh pemberian BAP (6-Benzyl Amino Purine) pada media multiplikasi tunas *Anthurium hookerii* Kunth. Enum. secara *in vitro*. *Vis Vitalis*. 2(2):23-30.
- Lakitan, B. 1996. Fisiologi Pertumbuhan dan Perkembangan Tanaman. Grafindo Persada. Jakarta.
- Manjunathagowda D.C., J. Gopal, R. Archana and K.R. Asiya. 2017. Virus-Free Seed Production of Garlic (*Allium sativum* L.): Status and Prospects. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci* 6(6): 2446-2456.
- Nissen S.J. , E.G. Sutter. 1990. Stability of IAA and IBA in nutrient medium to several tissue culture. *Hort Science* 25(7):800-802.
- Pernisova M., P. Klima, J. Horak, M. Valkova, J. Malbeck, P. Soucek, and P. Reichman, 2009. Cytokinins modulate auxin-induced organogenesis in plants via regulation of the auxin efflux. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 106: 3609-3614
- Permadi, A.H. 1995. Pemuliaan Bawang Merah. Pusat Penelitian dan Pengembangan Hortikultura. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Bogor.
- Prahardini, P. E. R., T. Sudaryono, dan S. Handayani. 1994. Komposisi media tumbuh untuk multiplikasi propagule salak secara *in vitro* pada suhu yang berbeda. *J. Hort.* 4(2): 64–70.
- Pramanik, D. dan F. Rachmawati. 2010. Pengaruh jenis media kultur *in vitro* dan jenis eksplan terhadap morfogenesis Lili Oriental. *J. Hort.* 20(2):111-119.
- Putrasamedja, S. 1995. Teknologi Produksi Bawang Merah. Balai Penelitian Tanaman Lembang.
- Robbiani, D., Tutik N, dan Nurul J. 2010. Pengaruh Kombinasi Naphthalene Acetic Acid (NAA) dan Kinetin pada Kultur *In Vitro* Eksplan Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum* L. var. *Prancak 95*). Program Studi Biologi, Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya. Available at: <http://docs.google.com>. [15 -05-2011]
- Su Y.H., Y.B. Liu, X.S. Zhang. 2011. Auxin–Cytokinin Interaction Regulates Meristem Development. *Mol Plant.*; 4(4): 616–625.
- Sumarni, N., E. Sumiati, dan Suwandi. 2005. Pengaruh kerapatan tanaman dan aplikasi zat pengatur tumbuh terhadap produksi umbi bibit bawang merah asal biji kultivar bima. *Jurnal Hortikultura*. 15(3): 208-214.

- Varshney A., M. Anis, . 2014. Trees: Propagation and Conservation Biotechnological Approaches for Propagation of a Multipurpose Tree, *Balanites aegyptiaca* Del (Review of Literature). New Delhi Imprint: Springer 2014.
- Walkey, D.G.A., Webb. M.J.W, Bolland,C.J. and Miller A. 1987. Production of Virus Free Garlic (*Allium sativum* L.) and Shallot (*A.ascalonicum* L) by Meristem Tip Culture. J. Hort. Sci. 62:221-223.
- Wattimena, G.A . 1988. Bioteknologi Tanaman. Pusat Antar Universitas Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Wetherell, D.F. 1982. Introduction to *In vitro* propagation. Avery Publ. Group.Inc Wayne. New Jersey.
- Wetter, L.R. dan Constabel F. 1991. Metode Kultur Jaringan Tanaman. Diterjemahkan oleh Mathilda B. Widiyanto. ITB. Bandung.
- Yelnitis, N. Bernawie, dan Syafarudin. 1991. Perbanyak klon lada varietas panniyur secara *in vitro*. J. Penel. Tan. Industri. 5(3):11-15.
- Yunus, A. 2007. Pengaruh IAA dan Kinetin terhadap pertumbuhan eksplan bawang merah (*Allium ascolonicum* L.) secara *in vitro*. Jurnal Akta Agrosia. Edisi Khusus No.1: 53-58.
- Yusnita. 2003. Kultur Jaringan Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien. PT Agro Media Pustaka. Jakarta. 105 hal.
- Zulfiqar, Bushra, A.A. Nadeem, A. Touqeer, and I.A. Hafiz. 2009. Effect of explant sources and different concentrations of plant growth regulators on *in vitro* shoot proliferation and rooting of avocado (*persea americana* mill.). Pak. J. Bot., 41(5): 2333-2346. Department of Horticulture, Pir Mehr Ali Shah Arid Agriculture University, Rawalpindi, Pakistan
- Zulkarnain. 2009. Kultur Jaringan Tanaman, Solusi Perbanyak Tanaman Budidaya. Jakarta: Bumi Aksara.