

**EFEK ANTIVIRAL RIBAVIRIN DALAM PERTUMBUHAN DAN
PERKEMBANGAN EKSPLAN BAWANG PUTIH CV. LUMBU HIJAU,
CV. LUMBU KUNING DAN CV. TAWANGMANGU**

*The Effect of Antiviral Ribavirin on Proliferation of Garlic
Cv. Lumbu Hijau, Cv. Lumbu Kuning and Cv. Tawangmangu*

Asih K. Karjadi* dan Neni Gunaeni

Balai Penelitian Tanaman Sayuran
Jl. Tangkuban Perahu no. 517 Lembang- Bandung Barat

*Alamat Korespondensi : asihkk@yahoo.com

ABSTRAK

Tanaman bawang putih (*Allium sativum* L) termasuk dalam genus *Allium* yang diperbanyak secara vegetatif melalui umbi. Virus merupakan salah satu penyakit penting yang perlu dipecahkan pada pembiakan vegetatif ini. Teknik inkonvensional kultur jaringan yang dikombinasikan dengan kemoterapi dapat membantu menghilangkan penyakit virus. Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh dari beberapa konsentrasi antiviral ribavirin di media MS terhadap pertumbuhan dan perkembangan *shoot tip* Bawang putih cv Lumbu Hijau, cv. Lumbu Kuning, cv. Tawangmangu. Percobaan dilakukan di laboratorium kultur jaringan, Balai Penelitian Tanaman Sayur (Balitsa), pada bulan Mei hingga Juli 2015. Sasaran penelitian adalah untuk menghasilkan tanaman bebas virus dengan menggunakan teknik kultur jaringan yang dikombinasikan dengan kemoterapi. Variabel yang diamati adalah pertumbuhan dan perkembangan planlet bawang putih. Hasil dari penelitian (1) Kontaminasi kultur umumnya disebabkan oleh bakteri dan jamur dengan persentase 10 % sampai dengan 30%. (2) Penambahan antiviral ribavirin, semakin tinggi konsentrasi persentase tumbuh dan berkembang semakin rendah untuk ketiga kultivar (3) Pengamatan secara visual penambahan antiviral ribavirin dan kultivar tidak berpengaruh pada jumlah tunas, rata-rata dari satu eksplan tumbuh satu tunas untuk ketiga kultivar (4). Penambahan antiviral ribavirin dan kultivar tidak mempengaruhi pertumbuhan daun, akar ketiga kultivar (5). Hasil pengujian virus dengan teknik DAS ELISA persentase kultur yang terinfeksi 54.55% sampai dengan 100 %.

Kata kunci: bawang putih (*Allium sativum* L); antiviral ribavirin; kultivar

ABSTRAK

*The garlic (*Allium sativum* L) belonging to the genus *Allium*, propagated in vegetative through bulb. In the plants propagated by vegetative technique, virus is an important disease to be solved. The tissue culture techniques in combination with chemotherapy could eliminate virus diseases. The experiment carried out in the laboratory tissue culture, Balai Penelitian Tanaman Sayur (Balitsa) on May until July 2015. The experiment aims to observe the effect of several antiviral ribavirin concentration in MS medium on growth and development shoot tip cv. Lumbu hijau , cv. Lumbu kuning , cv. Tawangmangu. It's main goal is to produce virus-free plants using tissue culture techniques combined with chemotherapy. The variables observed were the growth and development of garlic plantlets. The results of the experiment are; (1). Culture contamination were generally caused by bacteria and fungi with a percentage of 10% to 30%. (2) In the high concentration of antiviral ribavirin gave results on decreasing growth and development of the three garlic cultivar (3) On visual observation, cultivar and antiviral ribavirin has no effect on the number of shoots, each explants were growing one shoot. (4). The added of antiviral ribavirin and cultivar does not affect on growth the three garlic cultivar . (5) The results of the test virus by serological test DAS ELISA techniques the percentage of infected culture were 54.55% to 100%.*

Key word : Garlic (*Allium sativum* L); Antiviral ribavirin; cultivar

PENDAHULUAN

Teknik kultur jaringan tanaman adalah suatu teknik penumbuhan bagian tanaman berupa potongan jaringan atau

organ tanaman yang dipisahkan dari lingkungan alami dalam suatu media buatan secara aseptik. Prinsip dasar dalam kultur jaringan adalah teori sel yang dikemukakan

oleh Scheiden dan Schwann (1839 – 1939), bahwa sel merupakan bagian unit biologis terkecil yang dapat melakukan aktifitas hidup, reproduksi dan tumbuh (Ayabe and Sumi, 1998; Abo El-Nil, 1977; Gabriela et al., 2001)

Tanaman bawang putih (*Allium sativum* L.) termasuk dalam genus *Allium* yang diperbanyak secara vegetatif melalui umbi. Di Negara-negara maju perbenihan bawang putih sudah dilakukan secara *in vitro*/mikropropagasi atau in konvensional baik untuk tujuan peningkatan mutu atau hanya perbanyakan tanaman (Abo-El-Nill, 1977; Moriconi, et al., 1990)

Pada tanaman yang diperbanyak secara vegetatif, virus merupakan salah satu penyakit penting yang perlu dipecahkan. Menurut Walkey (1987), infeksi penyakit sistemik virus ini dapat mengurangi produksi antara 25 – 50 % jumlah siung (*clove*), jumlah maupun bobot umbi dapat tereduksi sampai 45 %. Penyakit virus yang sudah menginfeksi akan terus berkembang secara turun temurun. Salah satu cara mengeleminasi virus pada tanaman yang diperbanyak secara vegetatif dengan perlakuan *chemotherapy* atau penambahan antiviral ribavirin, pemanasan atau dengan penanaman jaringan meristematik (kultur jaringan). Kombinasi teknik ini dapat meningkatkan kualitas dan kuantitas benih yang dihasilkan. Antiviral ribavirin merupakan bahan kimia yang dapat

ditambahkan ke media tumbuh aseptik untuk menghambat perkembangan virus di jaringan tanaman.

Perbanyakan in konvensional/kultur jaringan tumbuhan dikenal sebagai suatu teknik untuk menumbuhkan sel, jaringan, organ menjadi tumbuhan sempurna dalam media buatan yang dilakukan secara aseptik. Media tumbuh yang dipergunakan pada teknik kultur jaringan terdiri dari makro, mikro elemen, asam amino, vitamin dan suplemen organik lainnya seperti sumber karbohidrat, zat pengatur tumbuh (Gamborg et al., 1976; Barandiara et al., 1999; Koch et al., 1995) Perbanyakan bawang putih dengan menggunakan teknik kultur jaringan dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu komposisi media tumbuh, genotip, asal eksplan/donor eksplan (Buiteveld et al., 1994; Eady et al., 1998, Zheng et al., 1998).

Penelitian bertujuan untuk melihat pengaruh dari beberapa konsentrasi antiviral ribavirin di media MS (1962) pada pertumbuhan dan perkembangan *shoot tip* bawang putih cv. Lumbu hijau, cv. Lumbu Kuning dan cv. Tawangmangu. Untuk menghasilkan tanaman bebas penyakit terutama virus dengan menggunakan teknik kultur jaringan yang dikombinasikan dengan *chemotherapy* (antiviral ribavirin). Hipotesis diajukan adalah penambahan antiviral ribavirin pada media tumbuh secara inkonvensional akan menghasilkan

planlet bawang putih bebas penyakit sistemik terutama virus.

METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur jaringan Balai Penelitian Tanaman Sayuran pada bulan Mei sampai dengan Juli 2015, bahan tanaman (eksplan) yang dipergunakan adalah umbi bawang putih cv. Lumbu Hijau, cv. Lumbu Kuning, dan cv. Tawangmangu yang telah pecah dormansi dan terinfeksi virus hasil pengujian serologi DAS ELISA .

Tahapan penelitian dilakukan sebagai berikut:

1. Sterilisasi bahan eksplan

Umbi bawang putih yang telah pecah dormansi dikupas diambil tunas yang ada didalam siung bawang putih. Tunas tersebut dicuci dengan larutan deterjent dan di bilas kembali dengan aquadest 2 – 3 kali, lalu celupkan dalam larutan alkohol 70% dan rendam di larutan clorox 25% selama 15 menit, bilas kembali dengan aquadest steril 3 – 5 kali, pindahkan ke cawan petri steril.

2. Penumbuhan eksplan sebelum perlakuan

Eksplan sebelum diberi perlakuan antiviral ribavirin ditumbuhkan di media MS + MS vits + gula 30 g/l + IAA 2 mg/l + Kinetin 2 mg/l + GA₃ 0,01 mg/l + agar 0,65%, pH 5,7 – 5.8. Penumbuhan eksplan

dilakukan selama 2 – 3 minggu sampai dengan planlet mempunyai 2 – 3 helai daun.

Penanaman *shoot tip*/jaringan meristematik dengan beberapa daun primordial dilakukan di lingkungan steril *laminar airflow cabinet (L AFC)*, ditanam /diinokulasi di tabung reaksi 20 x 150 mm dengan 8 – 10 ml media. Kultur diinkubasikan di ruang kultur dengan temperatur 22 – 24 °C, photo periode 16 jam terang , 8 jam gelap dengan intensitas cahaya 1000 lux.

3. Perlakuan antiviral ribavirin

Setelah eksplan tumbuh menjadi planlet dengan daun 2 – 3 helai dipindahkan ke media perlakuan yaitu :

- a. Media R1 : MS + MS vits + sukrose 30 g/l + IAA 2 mg/l + Kinetin 2 mg/l + GA₃ 0,01 mg/l + gelgro 2 g/l + ribavirin 0 mg/l, pH 5,7
- b. Media R2: MS + MS vits + sukrose 30 g/l + IAA 2 mg/l + Kinetin 2 mg/l + GA₃ 0,01 mg/l + gelgro 2 g/l + ribavirin 5 mg/l, pH 5,7
- c. Media R3: MS + MS vits + sukrose 30 g/l + IAA 2 mg/l + Kinetin 2 mg/l + GA₃ 0,01 mg/l + gelgro 2 g/l + Ribavirin 10 mg/l, pH 5,7
- d. Media R4: MS + MS vits + sukrose 30 g/l + IAA 2 mg/l + Kinetin 2 mg/l + GA₃ 0,01 mg/l + gelgro 2 g/l + ribavirin 15 mg/l, pH 5,7

Setiap perlakuan ditanam 20 tabung reaksi 25 x 200 mm dengan 10 ml media

perlakuan. Pengamatan dilakukan secara visual pada 10 tabung yang diambil secara acak terhadap pertumbuhan dan perkembangan planlet bawang putih (jumlah tunas, jumlah daun, jumlah akar, persentase kontaminasi, persentase planlet tumbuh.)

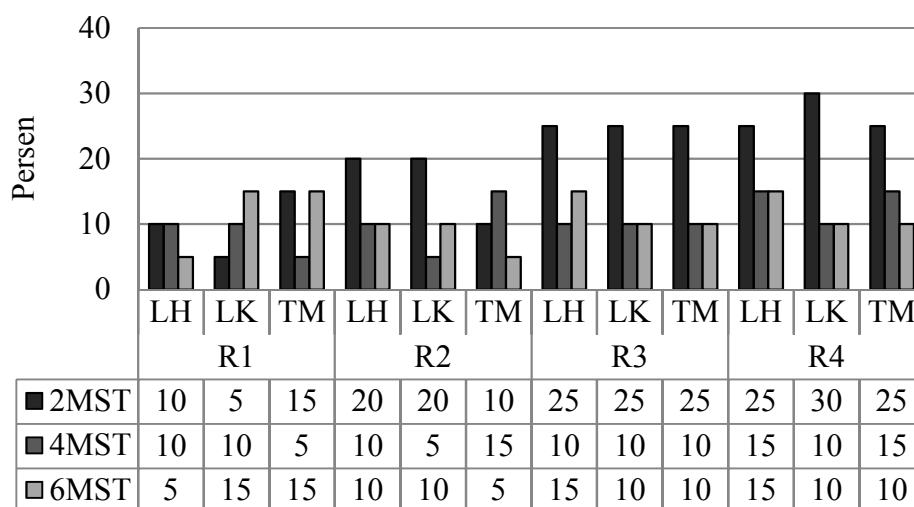
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan dari pertumbuhan dan perkembangan perlakuan antiviral ribavirin pada kultur bawang putih cv. Lumbu Hijau, cv. Lumbu Kuning dan cv. Tawangmangu, disajikan pada Gambar 1, Gambar 2, Gambar 3, Gambar 4 dan Gambar 5.

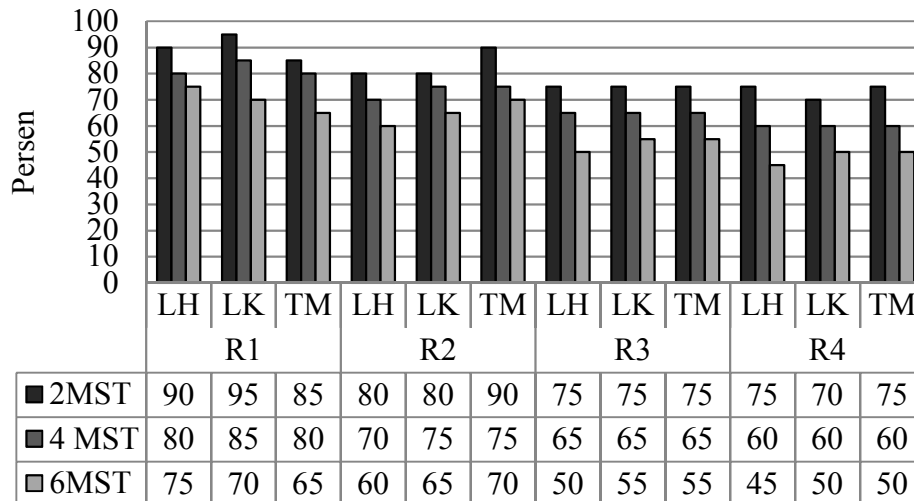
Pada Gambar 1, persentase kontaminasi umur 2 MST sampai dengan 6 MST antara 10% sampai dengan 30 %. Kontaminasi umumnya disebabkan oleh bakteri dan jamur, perlakuan antiviral ribavirin tidak berpengaruh pada persen

kontaminasi. Sumber kontaminasi terbawa dari sumber eksplan. Sterilisasi permukaan bahan eksplan belum mencukupi untuk menghilangkan sumber kontaminan di permukaan sumber eksplan (Haque et al., 1997; Rokhsana et al, 2002).

Dalam teknik kultur jaringan bahan tanaman/eksplan yang terbebas dari sumber kontaminan merupakan langkah yang sangat penting. Kontaminan hidup dapat berupa cendawan dan bakteri. Bila kontaminan tidak dihilangkan pada media tumbuh yang mengandung gula, vitamin, mineral sumber kontaminan akan tumbuh secara cepat. Eksplan yang tertutupi kontaminan akhirnya akan mati atau tidak berkembang, sebagai akibat langsung dari serangan cendawan, bakteri atau secara tidak langsung akibat persenyawaan toksik yang diproduksi oleh cendawan, bakteri (Naik and Chandra, 1993; Bodani and Chamka, 2010).



Gambar 1. Persentase kontaminasi kultur bawang putih. Keterangan: R1 = ribavirin 0 mg/l; R2 = ribavirin 5 mg/l; R3 = ribavirin 10 mg/l; R4= ribavirin 15 mg/l; LH = cv. Lumbu Hijau; LK = cv. Lumbu Kuning; TM = cv. Tawang Mangu.



Gambar 2. Persentase tumbuh dan berkembang planlet bawang putih. Keterangan: R1 = ribavirin 0 mg/l; R2 = ribavirin 5 mg/l; R3 = ribavirin 10 mg/l; R4= ribavirin 15 mg/l; LH = cv. Lumbu Hijau; LK = cv. Lumbu Kuning; TM = cv. Tawang Mangu.

Pertumbuhan planlet secara visual terlihat konsentrasi antiviral ribavirin berpengaruh pada pertumbuhan setelah planlet berumur 4 MST (Gambar 2). Semakin tinggi konsentrasi anti viral ribavirin, persentase tumbuh dan berkembang akan semakin rendah untuk ketiga kultivar bawang putih.

Keberhasilan pengembangan dan aplikasi kultur jaringan pada banyak tanaman dengan berbagai tujuan sangat dipengaruhi oleh media kultur dan tingkat kesesuaian dengan eksplan yang ditanam yaitu genotip dan jenis eksplan (George, 2008; Geier, 1990; Hamidah et al., 1977; Koch et al., 1995; Khar et al., 2005)

Menurut George and Sherington (1984), perbanyakan tanaman secara *in vitro* memiliki banyak keuntungan diantaranya (1) bahan tanaman yang digunakan lebih kecil sehingga tidak merusak pohon induk, (2) lingkungan

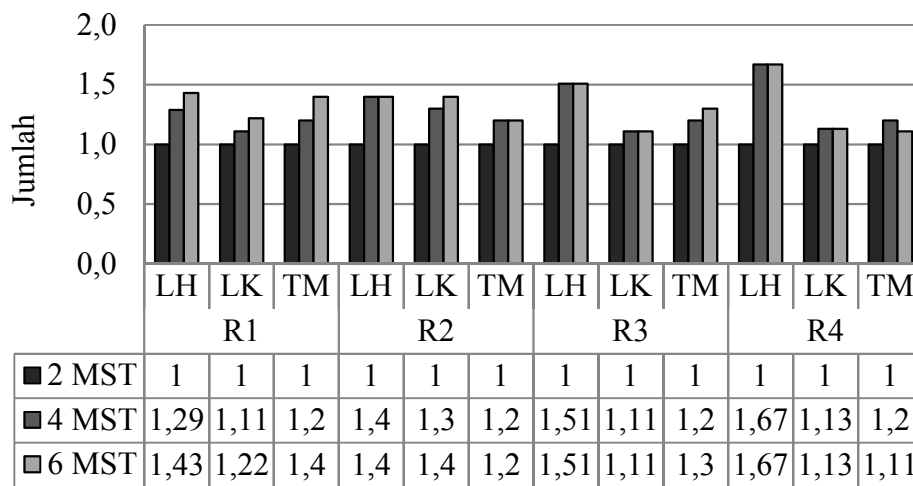
tumbuh kultur *in vitro* aseptik dan terkendali, (3) kecepatan perbanyakan tinggi, (4) dapat menghasilkan benih bebas penyakit dari induk yang sudah mengandung patogen internal dan (5) membutuhkan tempat yang relatif kecil untuk menghasilkan benih dalam jumlah besar. Geier (1990), menyatakan bahwa pemilihan eksplan dalam kultur jaringan berperan penting dalam keberhasilan, dan pemilihan eksplan ini berkaitan erat dengan kemampuan regenerasi (Teng, 1997) juga tujuan dari perbanyakan yang akan dicapai (Chen et al., 1997; Kamstaiyte and Stanys, 2004).

Gambar 3, memperlihatkan jumlah tunas planlet bawang putih ke 3 kultivar adalah 1,0 sampai dengan 1,67 per planlet, disini terlihat dari satu eksplan hanya tumbuh rata-rata 1 planlet. Pengamatan secara visual umumnya penambahan

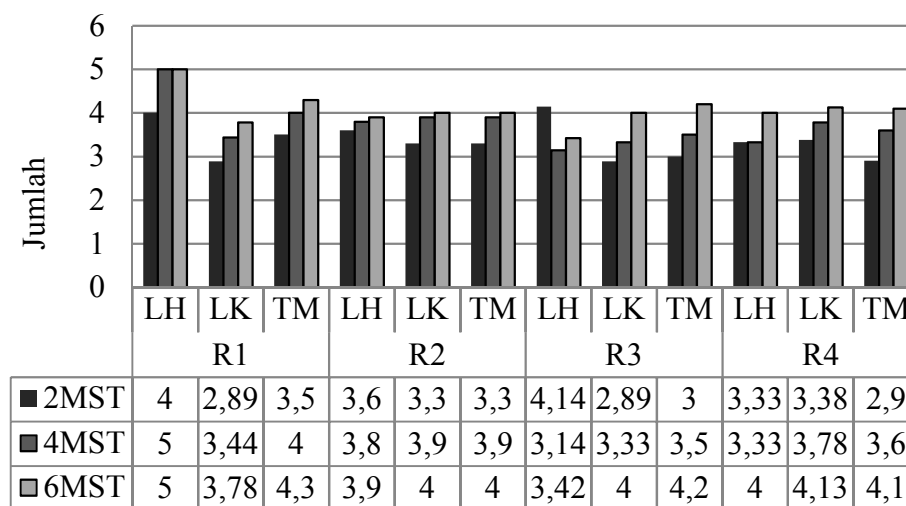
antiviral ribavirin dan kultivar tidak memberikan efek yang berbeda.

Pembentukan bakal tunas dan pertumbuhan tunas pada kultur *in vitro* dipengaruhi oleh berbagai faktor (Shen et al., 2008), diantaranya ialah jenis dan intensitas cahaya. Selain itu pertumbuhan dan perkembangan tanaman di dalam kultur

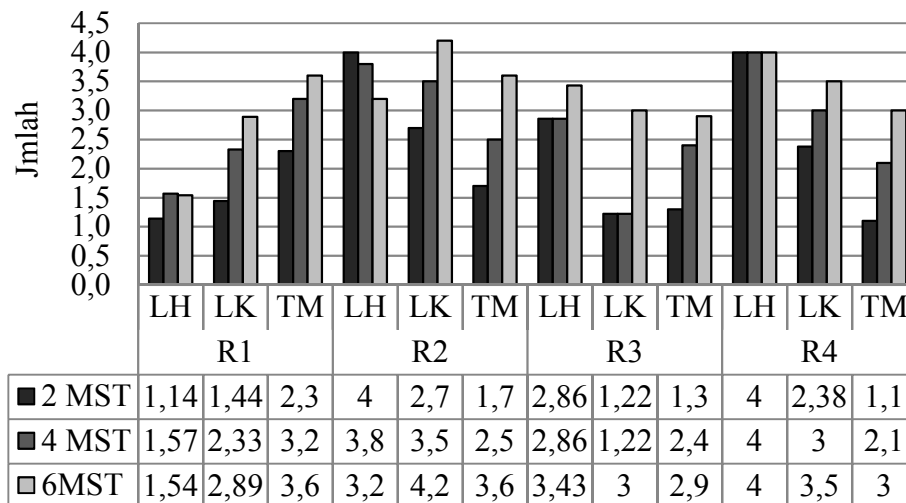
in vitro dipengaruhi oleh berbagai faktor yang sangat kompleks yaitu (a) faktor genetik, (b) nutrisi: air, unsur makro dan mikro serta sumber karbohidrat, (c) faktor fisik: cahaya, suhu, pH media, konsentrasi O₂ dan CO₂, (d) asam organik, zat pengatur tumbuh, asam amino dan vitamin.



Gambar 3. Jumlah tunas planlet bawang putih. Keterangan: R1 = ribavirin 0 mg/l; R2 = ribavirin 5 mg/l; R3 = ribavirin 10 mg/l; R4 = ribavirin 15 mg/l; LH = cv. Lumbu Hijau; LK = cv. Lumbu Kuning; TM = cv. Tawang Mangu.



Gambar 4. Jumlah daun planlet bawang putih. Keterangan: R1 = ribavirin 0 mg/l; R2 = ribavirin 5 mg/l; R3 = ribavirin 10 mg/l; R4 = ribavirin 15 mg/l; LH = cv. Lumbu Hijau; LK = cv. Lumbu Kuning; TM = cv. Tawang Mangu.



Gambar 5. Rata-rata jumlah akar planlet bawang putih. Keterangan: R1 = ribavirin 0 mg/l; R2 = ribavirin 5 mg/l; R3 = ribavirin 10 mg/l; R4= ribavirin 15 mg/l; LH = cv. Lumbu Hijau; LK = cv. Lumbu Kuning; TM = cv. Tawang Mangu.

Pada pengamatan jumlah daun per planlet 3 kultivar bawang putih (Gambar 4), terlihat jumlah daun bertambah dengan bertambahnya umur planlet. Penambahan antiviral ribavirin secara visual tidak mempengaruhi jumlah daun. Untuk ke 3 kultivar bawang putih hanya terlihat semakin tinggi konsentrasi antiviral ribavirin mempengaruhi pertumbuhan daun.

Perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan, respon dari eksplan bervariasi bergantung pada komponen, kondisi kultur (komposisi media dan unsur yang ditambahkan di media tumbuh), jenis eksplan (kultivar, ukuran, asal eksplan). Seringkali kombinasi dari dua atau lebih komponen tersebut yang diaplikasikan secara simultan maupun parsial diperlukan untuk meningkatkan respon dari eksplan (Roksana et al., 2002; Kamstaityte et al., 2004).

Pengamatan jumlah akar secara visual, perlakuan antiviral ribavirin dan kultivar tidak berpengaruh, akar tumbuh di semua perlakuan (Gambar 5). Menurut Welander (1985) dan Noiton et al. (1992) untuk meningkatkan pertumbuhan akar dari eksplan dapat dilakukan dengan sub kultur eksplan pada media yang sama. Dengan sub kultur disamping mengubah eksplan yang sulit berakar menjadi lebih mudah berakar, tetapi juga menyebabkan terjadinya penurunan kemampuan regenerasi dan pertumbuhan planlet.

Keberhasilan dalam teknik perbanyakan dengan kultur jaringan dipengaruhi oleh respon kultivar (genotip), jenis eksplan dan komposisi media yang digunakan (Geier, 1990; Hamidah et al., 1997). Menurut George et al. (2008), keberhasilan pengembangan dan aplikasi kultur jaringan pada banyak tanaman dengan berbagai tujuan sangat dipengaruhi

oleh media kultur dan tingkat kesesuaian dengan eksplan yang ditanam.

Teknik kultur jaringan semakin populer sebagai salah satu alternatif propagasi tanaman yang diperbanyak secara vegetatif. Teknik ini meliputi metode perbanyak asexual dengan tujuan utama untuk membuat tanaman yang mempunyai sifat unggul. Kesuksesan dari perbanyak *in vitro* ini bergantung pada kemampuan regenerasi tanaman dalam media tumbuh aseptik dan terkendali secara *in vitro*.

Perbanyak tanaman secara *in vitro* memberikan alternatif dalam eliminasi penyakit virus melalui kultur meristematik dikombinasikan dengan terapi panas/*heat treatment* atau penambahan antiviral ribavirin pada media tumbuh. Pada penelitian ini dilaksanakan penanaman jaringan meristematik dalam bentuk *shoot*

tip di media MS dengan penambahan beberapa konsentrasi antiviral ribavirin.

Menurut hasil penelitian Diekmann (1997), kelompok virus yang umum menyerang bawang-bawangan berasal dari *Carla-virus*, *Poty-virus* dan *Allexi-virus*. Virus utama pada tanaman bawang diantaranya *SLV (Shallot latent Virus)*, *OYDV (Onion Yellow Dwarf Virus)*, *SYSV (Shallot Yellow Stripe Virus)*. Di Indonesia Gunaeni et al. (2011), melaporkan insiden penyakit virus tular umbi pada bawang – bawangan dan mendeteksi infeksi *OYDV*, *SYSV* dan gabungan *OYDV-SYSV*. Infeksi campuran beberapa virus merupakan fenomena sering ditemukan pada penyakit yang disebabkan oleh virus. Infeksi virus pada tanaman bawang akan terkumulasi dari satu generasi ke generasi berikutnya.

Virus yang terbawa umbi benih dapat

Tabel 6. Hasil uji DAS ELISA pada planlet 3 kultivar bawang putih terinfeksi virus

Perlakuan		Jumlah kultur	Jumlah kultur terinfeksi		Total kultur terinfeksi	Persentase kultur terinfeksi (%)
Media	Kultivar		OYDV	SYSV		
R1 (ribavirin 0 mg/l)	cv. LH	15	7	6	13	86,67 (13/15)
	cv. LK	14	5	8	13	90,86 (13/14)
	cv. TM	13	6	7	13	100,00 (13/13)
R2 (ribavirin 5 mg/l)	cv. LH	12	5	6	11	91,67 (11/12)
	cv. LK	13	5	5	10	76,92 (10/13)
	cv. TM	14	4	5	9	64,29 (9/14)
R3 (ribavirin 10 mg/l)	cv. LH	10	3	4	7	70,00 (7/10)
	cv. LK	11	4	2	6	54,55 (6/11)
	cv. TM	11	3	4	7	63,64 (7/11)
R4 (ribavirin 15 mg/l)	cv. LH	9	2	3	5	55,56 (5/9)
	cv. LK	10	3	4	7	70,00 (7/10)
	cv. TM	10	3	3	6	60,00 (6/10)

Keterangan: OYDV = Onion Yellow Dwarf virus; SYSV = Shallots Yellow Strip Virus; LH = cv.Lumbu Hijau; LK = cv. Lumbu Kuning; TM = cv. Tawang Mangu.

menyebabkan pertumbuhan terhambat karena virus berkembang bersama dengan pertumbuhan tanaman.

Hasil deteksi penyakit virus pada planlet bawang putih (Tabel 6), terlihat persentase kultur yang terinfeksi 54,55% sampai dengan 100 %. Dari hasil ini dapat dikatakan dengan perlakuan antiviral ribavirin persentase planlet terinfeksi masih cukup tinggi, walaupun semakin tinggi konsentrasi antiviral ribavirin persentase kultur tidak terinfeksi semakin rendah untuk ketiga kultivar bawang putih. Penyakit virus masih terdeteksi hal ini mengindikasikan bahwa penambahan antiviral ribavirin belum optimal untuk mengeliminasi virus sehingga pada saat eksplan ditanam pada media regenerasi partikel virus masih terbawa (Zaitlin and Palukaitis, 2000).

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan:

1. Kontaminasi kultur umumnya disebabkan oleh bakteri dan jamur dengan persentase 10 % sampai dengan 30%.
2. Penambahan antiviral ribavirin, semakin tinggi konsentrasi persentase tumbuh dan berkembang semakin rendah untuk ke 3 kultivar bawang putih cv. Lumbu Hijau, cv. Lumbu Kuning, cv. Tawangmangu.

3. Pengamatan secara visual penambahan antiviral ribavirin dan kultivar tidak berpengaruh terhadap jumlah tunas, rata-rata dari satu eksplan tumbuh satu tunas untuk ke 3 kultivar yaitu cv. Lumbu Hijau, cv. Lumbu Kuning, cv. Tawangmangu.
4. Penambahan antiviral ribavirin dan kultivar tidak mempengaruhi pertumbuhan daun, akar ke 3 kultivar yaitu cv. Lumbu Hijau, cv. Lumbu Kuning, cv. Tawangmangu.
5. Hasil pengujian virus dengan teknik DAS ELISA persentase kultur yang terinfeksi 54,55% sampai dengan 100%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh ACIAR Project – Hort 2009 - 056. *Sustainable productivity improvements in Allium and Solanaceous Vegetable Crops in Indonesia and Sub Tropical Australia*. Dan kami sampaikan juga kepada Dr Witono Adiyoga, MS sebagai ketua team dalam project ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Abo El-Nil, M.M. 1977. Organogenesis and embryogenesis in callus cultures of garlic (*Allium sativum* L.). *Plant Science Letter*, 9(3): 259 – 264.
- Ayabe, M., and S. Sumi. 1988. Establishment of novel tissue culture method, stem-disc culture and its practical application to

- micropropagation of garlic (*Allium sativum* L.). *Plant Cell Report*, 17(10): 773 – 779.
- Badoni, A. and J.S. Chauhan. 2010. *In vitro* sterilization protocol for micropropagation of *Solanum tuberosum* cv. 'Kufri Himalini'. *Academia Arena*, 2(4): 24 – 27.
- Barandiaran, X., N. Martin, M.F. Rodriguez-Conde, J. Martin and A.D. Pietro. 1999. An efficient method for callus culture and shoot regeneration of garlic (*Allium sativum* L.). *HortScience*, 34(2): 348 – 349.
- Buiteveld, J. and J. Creemeers-Molenaar. 1994. Plant regeneration from protoplast isolated from suspension culture of leek (*Allium ampeloprasum* L.). *Plant Science*, 100(2): 203 – 210.
- Chen, F.C., A.R. Kuehnle and N. Sugii. 1997. Anthurium roots for micropropagation and agrobacterium tumifaciens, mediated gene transfer. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 49(1): 71 – 74.
- Diekmann, M. 1997. FAO/IPGRI. Technical guidelines for the safe movement of germplasm. No. 18. *Allium* spp. Food and agriculture organization of The United Nations, Rome/ International Plant Genetic Resources Institute, Rome. pp. 19 – 30.
- Dijk, P.V. 1993. Carlavirus isolates from cultivated *Allium* sp. represent three viruses. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 99(5 – 6): 233–257.
- Eady, C.C., R.C. Bulter and Y. Suo. 1998. Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature embryo cultures of onion (*Allium cepa* L.). *Plant Cell Reports*, 18(1 – 2): 111 – 116.
- Geier, T. 1990. Anthurium. pp. 228 – 252. *In: Ammirato P.V, D.A. Evans, W.R Sharp and Y.P.S. Bajaj (Eds)., Handbook of Plant Cell Culture Ornamental Species volume 5*. Mac. Graw Hill. New York.
- George, E.F., M.A. Hall, and G.J. De Klerk. 2008. The component of plant tissue culture medium I: macro and micro nutrients. pp. 283-335. *In: E.F. George, M. A. Hall and G. J. De Klerk (Eds). Plant propagation by tissue culture, the background volume I 3rd edition*. Springer, Netherlands.
- George, E.F. and P.D. Sherrington. 1984. *Plant propagation by tissue culture*. Exegetics Ltd. Edington.
- Gunaeni, N., A.W. Wulandari, A.S. Duriat dan A. Muharam. 2011. Insiden penyakit tular umbi pada tiga belas varietas bawang merah asal jabar dan jateng. *Journal of Horticulture*, 21 (2): 164 – 172.
- Gunawan L.W. 1987. Teknik kultur jaringan tumbuhan. PAU Bioteknologi. IPB. Bogor.
- Hamidah, M., A.G.A. Karim and P. Debergh. 1997. Somatic embryogenesis and plant regeneration *Anthurium scherzerianum*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 48(3): 189 – 193.
- Haque, M.S., T. Wada and K. Hattori. 1997. High frequency shoot regeneration and plantlet formation from root tip of garlic. *Plant Cell, Tissue Organ Culture*, 50 (2): 83 – 89.
- Kamstaityte, D. and S. Stanys, 2004. Micropropagation of onion (*Allium cepa* L.). *Acta Uniersitatis Latviensis, Biology*, 676: 173 – 176.
- Khar, A., R.D. Bhutani, N. Yadav and V.K. Chowdhury. 2005. Effect of explants and genotype on callus culture and regeneration in onion (*Allium cepa* L.). *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 18(3): 397 – 404.
- Koch, M., Z. Tanami and R. Salomon. 1995. Improved regeneration of

- shoots from garlic callus. *Hort. Sci.*, 30: 378 – 379
- Luciani, G. F., P.A. Marinangeli and N.R. Curvetto. 2001. Increasing Nitrate/ammonium ratio for improvement of garlic micro propagation. *Scientia Horticulturae*, 87: 11 – 20.
- Moriconi, D.N., V.C. Conci, S.F. Nome. 1990. Rapid Multiplication of Garlic (*Allium sativum* L.) in vitro. *Phyton*, 51(2): 145 – 151.
- Murashige, T. and F. Skoog . 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15: 473 – 497.
- Naik, P.S. and R. Chandra. 1993. Use of tissue culture technique in crop improvement with special reference to potato. CPRI Shinla.
- Noiton, D., J.H. Vine and M.G. Mullins. 1992. Effect of serial sub culture in vitro on the endogenous levels of indole 3 –acetic acid and abscisic acid and root ability in micro cutting of “jonathan” apple. *Plant growth regulation*, 11(4): 337 – 383.
- Roksana, R., M.F. Alam, R. Islam and M.M. Hossain. 2002. In vitro bulblet formation from shoot apex in garlic (*Allium sativum* L.). *Plant Tissue Culture and Biotechnology*, 12(1) : 11 – 17.
- Shen , X., M.E. Kane and J. Chen. 2008. Effects of genotype, explants source and plant growth regulators on indirect shoot organogenesis in *Dieffenbachia* cultivars. *In Vitro Cell.Dev.Biol.-Plant*, 44:282 – 288.
- Teng, W.L. 1997. Regeneration of Anthurium Adventitious shoots using liquids or raft culture. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 49(2): 153 – 156.
- Walkey, D.G.A., M.J.W. Webb, C.J. Bolland, and A. Miller. (1987). Production of virus-free garlic (*Allium sativum* L.) and shallot (*A. ascalonicum* L.) by meristem-tip culture. *Journal of Horticultural Science*, 62(2), 211 – 220.
- Welander, M. 1985. In vitro Shoot and Root formation in apple cultivars Akerö. *Annals of Botany*, 55(2): 249 – 261.
- Zaitlin, M. and P. Palukaitis. 2000. Advances in understanding plant viruses and virus diseases. *Annual Review of Phytopathology*, 38(1): 117 – 143.
- Zheng, S., B. Henken, E. Sofiari, E. Jacobsen F.A. Krens and C. Kik, 1998. Factors influencing induction propagation and regeneration of mature zygotic embryo derived callus from *Allium cepa*. *Plant Cell. Tissue and Organ Culture*, 53(2): 99 – 105.