



Bioprospek

<https://fmipa.unmul.ac.id/jurnal/index/Bioprospek>



PENGARUH KONSENTRASI SUKROSA TERHADAP PERTUMBUHAN KALUS, SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN BAWANG MERAH (*Allium ascalonicum* L.)

Sylvani Citra Nurfadhila¹, Yanti Puspita Sari^{1*}, Puji Astuti²

1. Universitas Mulawarman, Gn Kelua, Kec. Samarinda Ulu, Kota Samarinda, Kalimantan Timur 75242
2. Universitas 17 Agustus 1945, Jln.Ir. H. Juanda No.80. Kota Samarinda, Kalimantan Timur 75124

INFO ARTIKEL

Disubmit **26 Juni 2024**
Diterima **8 Agustus 2024**
Terbit Online **01 Desember 2024**

Kata kunci: *Allium ascalonicum* L., antioksidan, kultur jaringan, metabolit sekunder, sukrosa

ABSTRAK

Bawang merah (*Allium ascalonicum* L.) merupakan komoditas sayuran yang memiliki banyak manfaat dalam bidang pangan dan pengobatan. Untuk memaksimalkan pemanfaatan bawang merah sebagai tanaman obat, digunakan bahan berupa kalus yang diperoleh melalui teknik kultur jaringan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi sukrosa terhadap pertumbuhan kalus, kandungan senyawa metabolit sekunder, dan aktivitas antioksidan bawang merah. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan konsentrasi sukrosa, yaitu 0, 15, 30, 45, dan 60 g/L dalam media Murashige Skoog (MS) yang ditambahkan zat pengatur tumbuh (ZPT) pikloram 5 mg/L + kinetin 3 mg/L. Setiap perlakuan diulang lima kali sehingga total percobaan sebanyak 25 unit. Pengujian meliputi induksi kalus, uji fitokimia (alkaloid, fenolik, flavonoid, saponin, steroid-triterpenoid), dan uji aktivitas antioksidan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan sukrosa 30 g/L memberikan hasil terbaik dalam menginduksi kalus, dengan rata-rata waktu tumbuh kalus 33,6 hari, tekstur kalus remah-kompak, warna kalus kuning, dan berat rata-rata kalus $0,583 \pm 0,278$ g. Kandungan metabolit sekunder meliputi alkaloid, fenolik, flavonoid, dan saponin. Aktivitas antioksidan mencapai 17,691 ppm, yang termasuk dalam kategori antioksidan sangat kuat.

*Email Corresponding Author: ypsman2002@yahoo.com

1. PENDAHULUAN

Bawang merah (*Allium ascalonicum*) adalah tanaman umbi lapis dari keluarga Liliceae, yang menjadi konsumsi umum masyarakat. Sebagai bumbu masakan, campuran makanan, dan obat tradisional (Zubair *et al.*, 2021). Tanaman tersebut memiliki kandungan metabolit sekunder yang bermanfaat bagi kesehatan tubuh. Kandungan tersebut antara lain seperti tannin, terpenoid, alkaloid, dan flavonoid. Flavonoid memiliki sifat mendenaturasi protein menyebabkan metabolisme bakteri terhenti, saponin menyebabkan sel pecah atau lisis, dan tanin bersifat sebagai senyawa antibakteri (Wulaisfan *et al.*, 2018).

Berdasarkan manfaat dan kandungan metabolit sekunder yang dimiliki oleh bawang merah, membuat permintaan terhadap bawang merah semakin tinggi. Menurut Badan Pusat Statistika (BPS) tahun 2019, produksi bawang merah mencapai sebesar 1.580.247 ton, namun dari data produksi tersebut ternyata masih belum memenuhi permintaan pasar. Selain itu, kelangkaan benih ditambah dengan harga benih yang mahal, menjadi hambatan dalam peningkatan produksi bawang merah (Rihadi *et al.*, 2021).

Salah satu teknik budidaya yang mampu memberikan penyediaan bibit bawang merah secara maksimal adalah teknik kultur jaringan. Kultur jaringan merupakan suatu teknik untuk mengisolasi sel, jaringan, maupun organ dengan cara menumbuhkan objek tersebut pada media bernutrisi. Media tersebut mengandung Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) dalam kondisi aseptik sehingga bagian objek tersebut dapat beregenerasi menjadi tanaman sempurna (Kustiani, 2020).

Perbanyak tunas dengan menggunakan teknik kultur jaringan terbagi menjadi dua cara, yaitu langsung dan tidak langsung. Langsung artinya tunas bisa langsung terbentuk dari eksplan yang digunakan, tidak langsung artinya pembentukan tunas melalui perantaraan kalus terlebih dahulu (Tyas *et al.*, 2016).

Kalus adalah masa sel yang belum terdiferensiasi. Hal tersebut merupakan hasil dari pembelahan sel secara terus menerus (Marlin *et al.*, 2012). Pada lingkungan terkendali, perlu untuk mengetahui kondisi spesifik yang dibutuhkan agar tanaman dapat melakukan kemampuan totipotensi. Pemberian ZPT merupakan salah satu cara untuk mengarahkan pertumbuhan dan perkembangan morfologi eksplan tersebut (Yusnita, 2015).

Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) berasal dari konsep hormon tanaman. Senyawa ini mempengaruhi fisiologis, deferensiasi, dan perkembangan tanaman. ZPT terbagi menjadi dua jenis yaitu endogen (berasal dari dalam tanaman) dan eksogen (berasal dari luar tanaman). Keduanya memiliki fungsi yang sama yang hanya dibedakan berdasarkan sumber didapatkan (Mutryarny & Wulantika, 2020). Pemberian ZPT yang seimbang akan membentuk kalus. Salah satu jenis ZPT yang dapat digunakan dalam induksi kalus ialah pikloram dan kinetin. Pikloram berasal dari golongan ZPT auksin sedangkan kinetin berasal dari golongan ZPT sitokinin (Muzdalifah, 2017).

Pikloram memiliki karakteristik yang hampir menyerupai 2,4-Diklorofenosiasetat namun diketahui lebih efektif dalam induksi kalus jika dibandingkan dengan 2,4-Diklorofenosiasetat. Kinetin memiliki sifat untuk mendorong laju pembelahan sel dan sintesis protein. Senyawa ini dapat meningkatkan poliferasi kalus, regenerasi mitosis sitokinesis, sintesis total protein, dan diferensiasi sel (Muzdalifah, 2017). Pada penelitian Estaji *et al.*, (2021), penggunaan kombinasi 2 μM *picloram* dan 4 μM kinetin berhasil menumbuhkan kalus pada tumbuhan lily (*Lilium brownii* var. *giganteum*), sedangkan pada penelitian yang dilakukan Rukayah (2018), menggunakan kombinasi ZPT 5 μM *picloram* dan 3 μM kinetin berhasil menumbuhkan kalus pada tanaman bawang putih tunggal (*Allium sativum* L).

Kalus yang di induksi dapat diperbanyak dan dimanfaatkan secara langsung. Salah satu pemanfaatannya ialah manipulasi biosintesis senyawa bioaktif dengan kualitas dan kuantitas yang lebih baik daripada tanaman *in vivo*. Hal ini terjadi karena kalus ditanam pada media terkontrol, steril, dan tidak dipengaruhi oleh kondisi aseptik ataupun musim. Sehingga produksi metabolit sekunder tidak akan terganggu. Hal ini memungkinkan produksi metabolit sekunder lebih banyak dengan kualitas yang lebih baik (Setiawati *et al.*, 2020).

Untuk mendukung induksi kalus dan peningkatan produksi metabolit sekunder dibutuhkan prekursor tertentu yang ditambahkan pada media tanam, salah satunya adalah sukrosa. Sukrosa memiliki peran sebagai sumber energi pada media tanaman (Inayah, 2015). Menurut Shofiyani *et al.*, (2020), sukrosa dengan konsentrasi 30 g/l pada tumbuhan kencur (*Kaempferia galanga* L.) menghasilkan kalus

remah, coklat, dengan konsentrasi fenol tertinggi, sedangkan menurut Sari *et al.*, (2018). Kalus *Myrmecodia tuberosa* yang tumbuh pada konsentrasi sukrosa 30 g/l memiliki kandungan metabolit sekunder terbaik.

Oleh karena itu, berdasarkan informasi yang sudah didapatkan, maka dilakukan penelitian mengenai pengaruh kadar sukrosa terhadap pertumbuhan kalus dan senyawa metabolit sekunder tanaman bawang merah (*Allium ascalonicum*).

2. MATERI DAN METODE

Alat dan bahan

Pembentukan Kalus Alat yang digunakan adalah *Laminar Air Flow* (LAF), *autoclave*, *incubator*, timbangan analitik, pH meter, *hot plate*, pipet ukur, botol kultur, cawan petri, *beaker glass*, gelas ukur, spatula, erlenmeyer, karet gelang, aluminium foil plastik HD, spirtus, pinset, *scapel*, *magnetic stirrer*, *handsprayer*, tisu, alat tulis, dan kertas label. Bahan yang digunakan adalah umbi bawang merah (*Allium ascalonicum*), aquades, larutan stok, agar, sukrosa (gula pasir), NaOH 1N, Zat Pengatur Tumbuh *picloram* dan kinetin untuk pembuatan media MS0, bakterisida fungisida, detergen, tween 20, bayclin 20% dan 15%, alkohol 70% dan 95% untuk sterilisasi luar dan dalam.

Ekstraksi Sampel Alat-alat yang digunakan adalah neraca analitik, botol sampel pinset, mortar, *rotary evaporator*, *vacuum pump*, gelas ukur, corong dan aluminium foil. Bahan yang digunakan antara lain kalus bawang merah, alkohol 95% dan 70%, vaselin, es batu, kertas saring, dan aquades.

Uji Fitokimia Alat yang digunakan dalam uji fitokimia antara lain: tabung reaksi, rak tabung, neraca analitik, pipet tetes, corong, cawan petri, kertas saring, batang pengaduk, *hot plate*, *beaker glass*, eppendorf, mikropipet, *blue tip*, *yellow top*, kamera digital, kertas label, aluminium foil, tissue, dan alat tulis. Bahan yang digunakan antara lain ekstrak kalus tanaman bawang merah, etanol, pereaksi dragendoff, HCl, FeCl₃, H₂SO₄, DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), dan vitamin C.

Prosedur Kerja

Sterilisasi Alat Alat yang biasa digunakan dalam kegiatan penanaman dalam keadaan yang bersih dan steril. Alat tersebut berupa *stainless steel*, dan kaca yang dibungkus menggunakan kertas serta plastik, kemudian dimasukkan kedalam *autoclave* selama 30 menit, dengan suhu 121°C dan tekanan 15 lbs (Zulkarnain, 2009). Pada sterilisasi alat lain seperti botol kaca, dilakukan setelah botol dicuci sampai bersih menggunakan deterjen dan dikeringkan. Kemudian, disteril menggunakan *autoclave*, selanjutnya botol akan disimpan pada tempat atau keranjang yang bersih. Jika penanaman akan dilakukan, maka sehari sebelum penanaman botol dan alat tanam akan dimasukkan kedalam (*Laminar Air Flow*). LAF kemudian di steril kembali menggunakan sinar UV selama semalaman. Pada proses penanaman, alat yang sudah digunakan dapat disterilkan kembali dengan alkohol 95% dan pembakaran diatas api bunsen (Husain, 2012).

Pembuatan Media Kultur pembuatan media MS diawali dengan penimbangan bahan-bahan yang dibutuhkan, yaitu medium MS (*basal nutrient*), sukrosa, agar, dan zat pengatur tumbuh (Kurnianingsih *et al.*, 2020), Selanjutnya dilakukan pembuatan media MS mengacu pada Husain, (2012). Pertama-tama dimasukkan 500 mL aquades ke dalam gelas erlenmeyer 1000 mL, kemudian ditambahkan media MS, lalu dimasukkan sukrosa sesuai dengan perlakuan, setelah itu dihomogenkan. Selanjutnya ditambahkan aquades hingga mencapai 1000mL, dan ditambahkan HCl atau NaOH kemudian diukur pHnya menyesuaikan hingga 5,8 – 6,2. Ditambahkan bubuk agar sebanyak 8 gr dan dihomogenkan hingga benar-benar terlarut. Didihkan sambil diaduk menggunakan *magnetic stirrer* sampai larutan berubah menjadi jernih. Larutan yang sudah mendidih dituang kedalam botol kultur, ditutup dengan plastik HD dan diikat menggunakan karet gelang. Terakhir, botol kultur yang sudah ditutup dengan plastik disterilkan dengan autoklaf dengan suhu 121°C, selama 15 menit dalam tekanan 1 atm.

Sterilisasi Eksplan Sterilisasi dilakukan dengan dua tahap, mengacu pada Pebriana *et al.*, (2019) dengan modifikasi. Tahapan pertama dilakukan dengan membersihkan umbi *Allium ascalonicum*,

meliputi pengupasan kulit dan pemotongan cakram batang semu. Kemudian, umbi direndam selama 1 jam 50 menit dengan menggunakan deterjen. Selanjutnya dibilas pada air mengalir hingga bersih. Kemudian, umbi direndam kembali dengan bakterisida, fungisida, dan insektisida selama 1 jam 50 menit. Umbi yang sudah direndam kemudian dibilas dalam air mengalir hingga bersih. Pada sterilisasi tahap dua dilakukan pada *Laminar Air Flow* (LAF), dimana tanaman yang sudah dibilas akan direndam dengan HgCl sebanyak 0,2 g untuk 250 L dan diberi tween 80 sebanyak 5 tetes selama 10 menit. Kemudian, umbi dibilas menggunakan aquades steril. Selanjutnya, umbi secara berturut-turut direndam dalam larutan bayclin masing-masing 20% selama 7 menit, dan 15% selama 5 menit. Kemudian, umbi dibilas dengan aquades steril sebanyak dua kali. Selanjutnya, umbi direndam dengan alkohol 70% selama 7 menit, dan dibilas menggunakan aquades steril sebanyak satu kali. Terakhir umbi yang sudah dibilas akan diberi aquades steril hingga terendam sepenuhnya dan diberi betadin sebanyak 20 tetes. Umbi yang berada didalam rendaman betadin akan ditutup dengan aluminium foil dan selanjutnya akan dilakukan inisiasi.

Penanaman Eksplan Kegiatan penanaman dilakukan di dalam *Laminar Air Flow* (LAF) mengacu pada Purba *et al.*, (2017). Setelah dilakukan sterilisasi, umbi yang direndam dalam larutan betadin akan diambil dan dibersihkan dengan kertas saring steril diatas cawan petri. Kemudian, umbi dipotong dan dikupas kulitnya dan diambil embrionya. Embrio sedikit dilukai untuk memicu proses pertumbuhan kalus. Embrio yang sudah dilukai akan ditanam pada media MS botol yang sudah diberi ZPT. Eksplan yang sudah ditanam di dalam botol kemudian ditutup dengan plastik HD dan diikat dengan karet gelang yang sudah steril. Botol tersebut kemudian di simpan di ruang ruang inkubasi dengan suhu 25°C selama 12 minggu masa tanam.

Subkultur Kalus Kalus yang terbentuk disubkultur pada media yang sama. Hasil perbanyakan kalus akan dikumpulkan untuk bahan uji metabolit sekunder selanjutnya.

Pembuatan Ekstrak Kalus yang sudah dikumpulkan kemudian dimaserasi menggunakan etanol 95% sebagai pelarut selama 48 jam. Proses ekstraksi dilanjutkan sampai larutan berubah menjadi jernih, diikuti dengan filtrasi menggunakan kertas saring. Setelah filtrasi, larutan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* sampai didapatkan ekstrak kalus yang murni (Sari *et al.*, 2018). Hasil ekstrak kemudian dikumpulkan dan siap digunakan untuk uji senyawa metabolit sekunder dan antioksidan selanjutnya.

Uji Fitokimia

Uji metabolit sekunder secara kualitatif dilakukan untuk melihat senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada kalus bawang merah dari konsentrasi sukrosa terbaik. Uji tersebut berupa: uji alkaloid, uji flavonoid, uji fenolik, uji saponin, dan uji steroid-triterpenoid. Uji ini mengacu pada Hasibuan & Edrianto, (2021) yang dijabarkan sebagai berikut:

Uji Alkaloid (Uji Dragendorff) Ekstrak kalus cair dipipet sebanyak 1 mL lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 3 tetes pereaksi dragendorff, kemudian, muncul reaksi positif apabila campuran yang diberikan dragendorff menunjukkan endapan kuning-jingga (orange).

Uji Flavonoid Ekstrak kalus cair dipipet sebanyak 1 mL lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi, campuran ditambahkan 0,5 mL HCl pekat, 3-4 butir magnesium, kocok kuat-kuat dan dibiarkan beberapa saat. Indikasi reaksi positif adalah perubahan warna campuran menjadi kuning, jingga hingga kemerahan. Hal ini menunjukkan adanya flavonidin dan sianidin.

Uji Fenolik Ekstrak kalus cair dipipet sebanyak 1 mL lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan 3 tetes FeCl₃ 1% kemudian dihomogenkan. Warna hijau, merah, ungu, biru, atau hitam pekat yang terbentuk menandakan jika larutan positif mengandung fenolik (Alfian & Susanti, 2012).

Uji Saponin Ekstrak kalus cair dipipet sebanyak 1 mL lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 mL air panas. Selanjutnya, dikocok kuat selama 10 detik, akan terbentuk

buih dengan tinggi 1-10 cm selama 10 menit, kemudian ditambahkan 1 tetes HCl 2N dan diamati reaksi positif ditandai dengan buih yang tidak menghilang.

Uji Steroid-Triterpenoid Ekstrak kalus cair dipipet sebanyak 1 mL lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan 3 tetes dietil eter dan dihomogenkan. Fraksi yang larut kemudian ditambahkan 3 tetes asam asetat glasial dan 3 tetes H₂SO₄ pekat lalu dihomogenkan. Jika warna akan berubah menjadi merah atau ungu, menandakan campuran yang positif mengandung triterpenoid, sedangkan warna hijau menandakan campuran positif mengandung steroid.

Uji Antioksidan Uji antioksidan hanya diperlakukan pada ekstrak pada konsentrasi sukrosa dengan morfologi terbaik. Metode pada uji antioksidan mengacu pada metode Wachidah, (2013), Solichah *et al.*, (2021), dan Suwardi & Noer, (2020). Dapat dijabarkan sebagai berikut: Kristal DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) ditimbang sebanyak 2,4 mg kemudian dilarutkan dengan etanol sebanyak 100 mL lalu dihomogenkan. Larutan dipindahkan pada labu ukur yang ditutupi sampai diperoleh larutan DPPH dengan konsentrasi 0,024 mg.mL⁻¹. Larutan akan digunakan dalam pengujian dan disimpan dalam keadaan gelap. Kemudian, larutan DPPH 0,024 mg.mL⁻¹ dipipet sebanyak 1 mL dan ditambahkan 1 mL etanol. Setelah dibiarkan selama 30 menit ditempat yang gelap, serapan larutan akan diukur dengan spektrofotometer pada taraf panjang gelombang 517 nm untuk mendapatkan panjang gelombang optimum. Setelah itu, ekstrak kalus bawang merah akan ditimbang hingga 5 mg, kemudian ekstrak tersebut dilarutkan dalam 10 mL etanol. Larutan ini merupakan larutan induk, sebanyak 20, 40, 100, 200, dan 400 µL larutan induk yang dipipet hingga 3 kali ulangan. Kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi sampai didapatkan konsentrasi sampel 5, 10, 25, 50, dan 100. Masing-masing tabung ditambahkan 1 mL larutan DPPH dan diberikan etanol sampai 2 mL lalu dihomogenkan. Selanjutnya ditimbang 10 mg vitamin C, kemudian dilarutkan dalam 10 mL etanol (1) yang merupakan larutan induk. Kemudian diambil sebanyak 1 mL lalu dilarutkan kembali dalam 10 mL etanol (0,1). Sebanyak 20, 40, 10, 200 dan 400 larutan induk dipipet hingga 3 kali ulangan dan dimasukkan kedalam tabung reaksi untuk mendapatkan konsentrasi sampel 1, 1,5, 2, 2,5, dan 3. Masing-masing tabung kemudian ditambahkan 1 mL etanol hingga mencapai 2 mL. Lalu larutan dihomogenkan.

Pengukuran Serapan Perendaman radikal Bebas DPPH

Larutan Uji dan Perbandingan konsentrasi diinkubasi selama 30 menit ditempat yang gelap. Serapan kemudian diukur menggunakan spektrofotometer UV-vis. Menurut Purwanto *et al.*, (2017), perhitungan besar serapan DPPH dapat dijumlahkan menggunakan rumus :

$$\% \text{inhibisi} = \frac{\text{Abs. blanko} - \text{Abs. sampel}}{\text{Abs. blanko}} \times 100\%$$

Keterangan:

Abs. Blanko = Absorban DPPH

Abs. Sampel = Absorbansi Sampel Uji

Nilai inhibisi (atau IC₅₀), akan menentukan besaran jumlah senyawa yang dapat meredam 50% senyawa radikal bebas didalam DPPH.

Parameter Pengamatan

Pada kalus, parameter pengamatan yang dilakukan selama pengamatan 12 MST meliputi:

1. Waktu munculnya kalus, yang diamati pada waktu pertama kali munculnya kalus.
2. Tekstur kalus, yang diamati selama 12 minggu setelah tanam dan diamati setiap minggunya.
3. Warna kalus, yang diamati selama 12 minggu setelah tanam dan diamati setiap minggunya.
4. Berat kalus, yang diukur setelah 12 minggu setelah masa tanam.
5. Uji metabolit sekunder yang diamati adalah ada atau tidak adanya kandungan alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin, steroid-triterpenoid, dan tanin. Hal ini akan diberikan simbol (+) jika ada, jika tidak didapatkan kandungan tersebut maka diberikan tanda (-).
6. Kalus terbaik yang diperoleh dari perlakuan sukrosa dihitung nilai aktivitas antioksidannya.

Analisis Data

Data kualitatif yang diperoleh dianalisis secara deskriptif serta data induksi kalus yang diperoleh dari hasil pengamatan dianalisis normalitas dan homogenitasnya menggunakan Uji ANOVA SPSS v.20, apabila data terdistribusi normal dan homogen maka akan dilanjutkan Uji *Tukey* pada taraf kepercayaan 95%. Apabila data tidak terdistribusi normal dan homogen, maka dilakukan dengan Uji *Kruskal-Wallis* yang dilanjutkan dengan Uji *Mann-Whitney*. Data aktivitas antioksidan metabolit sekunder dianalisis dengan menggunakan persamaan regresi linier.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Induksi Kalus

Induksi kalus bawang merah (*Allium ascalonicum*) diamati menggunakan beberapa parameter yaitu hari pertama munculnya kalus, warna, tekstur, dan juga berat kalus yang didapatkan setelah 12 minggu masa tanam (MST).

Morfologi Kalus

Sampel yang digunakan pada penelitian ini merupakan kalus tanaman bawang merah yang telah di induksi pada media dengan 5 variasi sukrosa pada media MS (Murashige & Skoog), yaitu 0 g/L, 15 g/L, 30 g/L, 45 g/L, dan 60 g/L yang diberi ZPT berupa *picloram* 5 mL, dan kinetin 3 mL selama 12 minggu. Hasil dari pengamatan selama 12 minggu dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 1. Morfologi kalus bawang merah pada media MS yang diberi perlakuan sukrosa selama 12 MST

Perlakuan	Rata-rata Muncul Kalus (Hari)	Tekstur	Warna Kalus	Keterangan
P0	0	-	-	Tidak ada
P1	40	Kompak-remah	Kuning muda	Muncul kalus
P2	33,6	Kompak-remah	Kuning muda	Muncul kalus
P3	48,2	Kompak-remah	Kuning muda	Muncul kalus
P4	42,8	Kompak-remah	Kuning tua	Muncul kalus



kuning muda



kuning



kuning tua

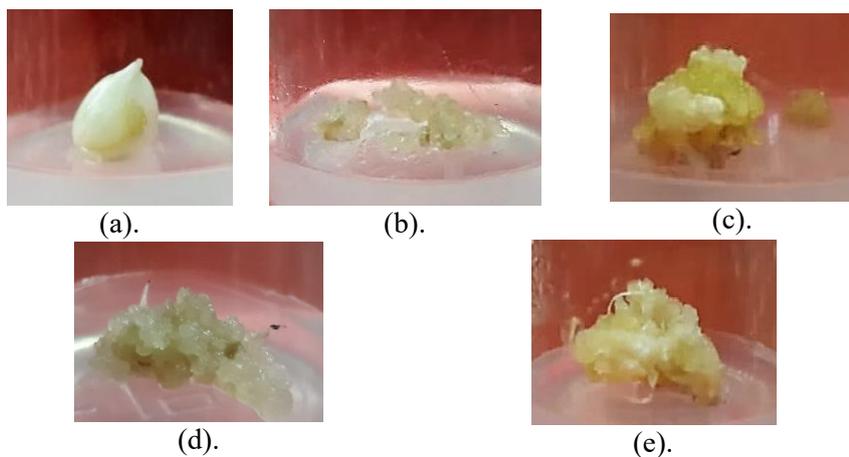
Berdasarkan **Tabel 1**, diketahui bahwa perlakuan sukrosa pada media MS dapat menginduksi kalus pada eksplan bawang merah. Sedangkan pada media MS yang tidak diberi sukrosa tidak terdapat perubahan ataupun pertumbuhan kalus bawang merah. Pada media MS yang diberi sukrosa dengan konsentrasi 30 g/L mengalami pertumbuhan kalus paling cepat, yaitu 33,6 hari sejak masa. Sedangkan pada konsentrasi 45 g/L menghasilkan kalus yang paling lama tumbuh yaitu selama 48,2 hari. Hal ini disebabkan oleh sukrosa diperlukan sebagai bahan hidrolisis monosakarida (Ulva *et al.*, 2011). Menurut Dewi *et al.*, (2023) sukrosa dibutuhkan untuk mendukung pertumbuhan kalus. Hal ini disebabkan karena kalus merupakan bentuk respon dari perbaikan sel yang dilukai. Proses tersebut membuat perubahan jalur metabolisme dan menginduksi respon pembelahan kalus secara terus menerus, dan membentuk massa sel yang belum terdeferensiasi. Pada konsentrasi sukrosa dibawah atau di atas 30 g/L cenderung lebih lambat pertumbuhan kalusnya. Hal ini disebabkan karena perbedaan tekanan osmotik yang diterima oleh sel. Menurut Dewi *et al.*, (2023), berubahnya pergerakan tekanan air melintasi membran sel menyebabkan ketidakseimbangan osmolaritas antara cairan didalam maupun diluar sel. Konsentrasi sukrosa berpengaruh pada sel-sel pada kalus memicu keluarnya air di dalam sel, yang kemudian berpengaruh pada penurunan volume sitoplasma dan vakuola sel. Berubahnya pergerakan air melintasi membran sel disebabkan oleh kurangnya air dapat menurunkan sel turgor yang memicu terhambatnya pertumbuhan dan pembelahan sel. Menurut Asif *et al.*, (2022) menyatakan bahwa selain tekanan osmotik, perbedaan kecepatan tumbuhnya kalus juga dapat terjadi karena faktor lain seperti faktor fisiologis tanaman sampel, sifat jaringan tanaman sampel, genotipe, dan unsur nutrisi pada media yang digunakan. Faktor-faktor tersebut mempengaruhi proses pembelahan sel pada kultur jaringan. Menurut Shofiyani *et al.*, (2020), menambahkan jika pada konsentrasi sukrosa yang rendah

menyebabkan menurunnya laju respirasi sel menyebabkan sintesis protein terhambat karena sumber nitrogen yang berkurang.

Warna kalus yang terbentuk dari perlakuan sukrosa yang ditambahkan adalah kuning muda, kuning, dan kuning tua. Pada perlakuan konsentrasi sukrosa 15 g/L dan 45 g/L menghasilkan warna kalus kuning muda. Pada konsentrasi 30 g/L berwarna kuning, dan konsentrasi 60 g/L berwarna kuning tua. Menurut Shofiyani *et al.*, (2020), warna kuning tersebut karena warna kalus yang pudar atau putih dan tidak mengandung kloroplas lebih banyak mengandung plastid berisi butir pati, kalus akan memiliki warna lebih pekat apabila konsentrasi sukrosa semakin tinggi, baik pada media padat ataupun cair. Ditambahkan oleh Dewi *et al.*, (2023), yang menyatakan bahwa kalus pada variasi sukrosa yang lebih pekat mengalami perubahan warna yang signifikan, eksplan kemudian akan bertambah kuning menjadi kecoklatan yang kemudian disebut *browning*, hal ini disebabkan permeabilisasi membran vakuolar, senyawa fenolik akhirnya mengalir menuju sitosol. Interaksi senyawa fenolik dan enzim polifenol oksidase akan membentuk senyawa quinon yang sangat reaktif dan mudah bereaksi spontan. Quinon dapat mempolimerisasi protein secara tidak spesifik sehingga memperlambat laju pertumbuhan, pembelahan sel, dan menyebabkan kematian pada sel eksplan. Namun, selain faktor dari dalam sistem sel, terdapat kasus dimana pekatnya konsentrasi sel menyebabkan degradasi klorofil, kebutuhan gula yang terpenuhi dan secara langsung menghambat berjalannya proses fotosintesis, sehingga eksplan tidak membentuk klorofil.

Kalus yang terbentuk biasanya memiliki tekstur kompak, remah, dan remah kompak. Kalus pada eksplan dengan konsentrasi 15 g/L, 30 g/L, 45 g/L, 60 g/L memiliki tekstur kompak-remah. Menurut Ulva *et al.*, (2019), bahwa tekstur kalus yang kompak berarti kalus yang dihasilkan dari proses lignifikasi sehingga kalus akan memiliki tekstur yang lebih keras. Auksin akan melonggarkan serat dinding sel, hal ini menyebabkan nutrisi yang mudah masuk secara difusi. Proses tersebut akan terus berlangsung sampai potensial air dan potensial osmotik seimbang menyebabkan sel menjadi turgid, dibantu dengan sitokinin yang mempercepat pemanjangan dan pembelahan sel sehingga membentuk kalus kompak. Pada kalus dengan tekstur remah disebabkan hormon NAA menstimulasi pemanjangan sel lewat plastisitas dinding sel menjadi longgar, sehingga memudahkan air yang masuk dengan cara osmosis, mengakibatkan pemanjangan sel. Oleh karena itu, kalus remah mengandung banyak air karena belum mengalami lignifikasi dinding sel, sehingga relatif mudah untuk dipisahkan. Pada kalus remah-kompak, merupakan perbandingan antara kalus dengan tekstur remah dan kompak. Kalus yang memiliki tekstur kompak dianggap baik karena mampu mengakumulasi metabolit sekunder lebih banyak dari kalus remah, sedangkan kalus remah lebih baik sebagai kultur suspensi perbanyak jumlah kalus dibanding kalus kompak.

Perbedaan warna dan tekstur kalus bawang merah dapat dilihat pada Gambar 1 dibawah ini:



Gambar 1. Hasil Pengamatan Morfologi Kalus Bawang Merah (a). MS0, (b). MS + sukrosa 15 g/L; (c). MS+sukrosa 30 g/L; (d). MS+sukrosa 45 g/L; (e). MS+sukrosa 60g/L.

Berat Kalus

Perlakuan konsentrasi sukrosa pada media MS memberikan pengaruh terhadap berat kalus bawang merah. Analisis berat kalus menggunakan SPSS yang dapat dilihat pada lampiran 10. Hasil pengamatan rata-rata berat kalus dapat dilihat pada **Tabel 2** berikut:

Tabel 1. Rata-rata berat kalus bawang merah pada media MS dengan perlakuan konsentrasi sukrosa setelah 12 MST

Perlakuan	Rata-rata Berat Kalus
P0	0,000±0,000
P1	0,247±0,198a
P2	0,583±0,278b
P3	0,228±0,148bc
P4	0,247±0,109cd

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata pada *Kruska Wallis* dengan taraf 95%. P0: MS0, P1: MS + 15 g/L, P2: MS + 30 g/L, P3: MS + 45 g/L, P4: MS + 60 g/L.

Berdasarkan **Tabel 2**, dapat diketahui pemberian konsentrasi sukrosa pada media berpengaruh terhadap berat kalus bawang merah. Pada hasil akhir penanaman selama 12 MST pada media MS ditambahkan 5 *picloram* dan 3 kinetin didapatkan berat kalus terbaik pada perlakuan konsentrasi sukrosa P2, yaitu 30 g/L dengan hasil timbangan berat kalus terbaik 1,143 gr dan terendah adalah P0 seberat 0 gr (tidak membentuk kalus). Hal ini berarti bahwa pemberian sukrosa amatlah penting pada kultur jaringan sebagai penunjang energi dan metabolisme eksplan. Konsentrasi sukrosa sebanyak 30 g/L merupakan konsentrasi optimal yang seringkali dipakai dalam kegiatan kultur jaringan. Pemberian konsentrasi secara berlebih maupun kurang dapat mempengaruhi jalannya pertumbuhan dan perkembangan sel secara langsung. Menurut Wahyuni *et al.*, (2020) karbon merupakan sumber energi eksplan. Eksplan yang tidak diberikan sumber karbon akan mengalami kesulitan dalam memproduksi makanannya sendiri yang disebut heterotrof. Penambahan sukrosa pada media akan menaikkan laju pertumbuhan kalus karena sukrosa akan menaikkan respirasi sel, menyebabkan perbanyakan biomassa kalus. Pemberian sukrosa dengan konsentrasi rendah akan menyebabkan rendahnya laju respirasi dan penyerapan nitrogen, sehingga energi yang dihasilkan akan rendah dan proses sintesis protein stagnan diakibatkan kurangnya asupan nitrogen.

Asupan selain sukrosa yang dapat memicu pertumbuhan kalus adalah hormon atau ZPT. Pemberian auksin berupa pikloram dan sitokinin berupa kinetin pada media berfungsi untuk memancing pertumbuhan kalus pada bagian bawang yang telah dilukai. Hal ini sejalan dengan Karjadi (2020), yang menyatakan jika media yang diberi auksin *picloram* dapat memancing pertumbuhan. Namun pemberian ZPT yang berlebihan juga dapat menghambat regenerasi dan pertumbuhan plantlet. Ditambahkan oleh Özel (2021), bahwa jika penambahan kinetin dalam media dapat menyebabkan peningkatan regenerasi. Hal ini menguatkan jika penambahan ZPT berpengaruh pada berat kalus, karena penambahan ZPT dengan konsentrasi yang tepat akan mempercepat laju regenerasi dan pertumbuhan sel eksplan.

Uji Metabolit Sekunder Kalus Bawang Merah

Uji metabolit sekunder dibagi menjadi dua, yaitu uji metabolit sekunder secara kualitatif dan uji metabolit sekunder secara kuantitatif.

Uji Kualitatif

Berikut merupakan perhitungan berat rendemen yang didapatkan dari proses evaporasi. Menurut Rifkowaty, (2016) berat rendemen artinya perbandingan antara berat hasil produk akhir dengan berat produk awal. Rendemen dapat dihitung dengan pembagian antara berat akhir dibagi berat awal lalu dikalikan 100%. Pada hasil akhir berat kalus yang sudah dievaporasi didapatkan sebesar 4,4144 gr kemudian dibagi dengan berat simplisia awal ekstrak kalus yang belum dievaporasi sebesar 103,194 gr. Berdasarkan perhitungan tersebut, didapatkan presentase rendemennya yaitu 4,278%. Wachidah (2013) menambahkan jika besaran presentase rendemen yang didapatkan dipengaruhi oleh kondisi sampel, waktu perendaman, metode yang digunakan, ukuran partikel, perbandingan jumlah pelarut sampel, jenis pelarut, dan hasil akhir evaporasi yang dihasilkan. Ekstrak kalus bawang merah yang telah didapatkan kemudian digunakan untuk uji kualitatif. Uji ini dilakukan untuk mengetahui kandungan

fitokimia yang terkandung didalamnya. Senyawa tersebut meliputi alkaloid, fenolik, flavonoid, triterpenoid/steroid dan saponin.

Hasil uji kualitatif pada ekstrak kalus bawang merah dapat dilihat di **Tabel 3** berikut:

Tabel 2. Hasil uji fitokimia ekstrak etanol kalus bawang merah

Perlakuan	Jenis Senyawa				
	Alkaloid	Fenolik	Flavonoid	Saponin	Triterpenoid
P0	-	-	-	-	-
P1	+	+	+	-	-
P2	+	+	+	+	-
P3	+	+	+	-	-
P4	+	-	+	+	-

Keterangan: (+): terdeteksi senyawa metabolit sekunder, (-): tidak terdeteksi/ senyawa metabolit sekunder terlalu sedikit.

Uji Kuantitatif Antioksidan

Uji antioksidan dilakukan pada ekstrak kalus dengan perlakuan sukrosa terbaik yaitu 30g/L. Perhitungan aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode radikal bebas DPPH dengan hasil nilai IC_{50} (Solichah *et al.*, 2021). DPPH adalah senyawa radikal bebas berwarna ungu yang stabil pada suhu kamar, apabila DPPH direaksikan dengan senyawa antioksidan, DPPH akan berubah berwarna kuning (Suwardi & Noer, 2020). Hasil pengukuran aktivitas antioksidan pada ekstrak kalus bawang merah dapat dilihat pada **Tabel 4**.

Berdasarkan hasil uji skrining fitokimia pada kalus bawang merah dengan perlakuan sukrosa 15 g/L, 30 g/L, 45 g/L dan 60 g/L masing-masing positif mengandung alkaloid. Hal ini ditandai dengan terjadinya endapan berwarna kuning saat kalus diberikan reagen dragendroff. Menurut Hasibuan & Edrianto (2021), endapan kuning sampai berwarna jingga ini menandakan jika kalus positif mengandung nitrogen alkaloid yang bereaksi dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomercurat (II) sehingga terbentuklah endapan kalium-alkaloid berwarna kuning sampai jingga didasar tabung reaksi.

Pada uji fenolik, diketahui bahwa pada kalus bawang merah dengan uji sukrosa sebesar 15 g/L, 30 g/L dan 45 g/L masing-masing positif mengandung senyawa fenolik. Hal ini terjadi karena terjadinya reaksi fenolik dengan ferri klorida yang menyebabkan terbentuk senyawa kompleks berwarna hijau. Menurut Alfian & Susanti (2012), perubahan warna yang terjadi pada simplisia merupakan reaksi antara fenolik dan ferri klorida. Pada uji ekstrak etanol bawang merah dengan konsentrasi sukrosa 60 g/L tidak terdapat warna hijau muda kekuningan. Hal ini dapat terjadi jika larutan tersebut sedikit mengandung senyawa fenolik atau tidak mampu bereaksi dengan ferri klorida.

Sedangkan, pada uji flavonoid masing-masing konsentrasi sukrosa positif mengandung senyawa flavonoid, pada uji tersebut ekstrak ditambahkan serbuk Mg dan diberi HCl pekat akan membentuk warna kuning sampai jingga. Mg atau magnesium digunakan sebagai pereduksi pada suasana asam HCl, flavonoid adalah senyawa yang mengandung dua cincin aromatik dengan gugus hidroksil lebih dari satu. Senyawa ini memiliki tingkat kelarutan yang tinggi pada pelarut polar karena memiliki sifat kepolaran yang tinggi (Hasibuan & Edrianto, 2021). Pada kegunaannya flavonoid merupakan senyawa anti jamur dengan mendenaturasi ikatan protein pada membran sel, semakin lipofilik suatu flavonoid maka semakin merusak membran mikroba (Simanjuntak & Butar-Butar, 2019).

Pada uji saponin, kalus dengan perlakuan sukrosa 30 dan 60 g/L diketahui positif mengandung senyawa saponin. Hal ini ditandai dengan terbentuknya busa setelah dilakukan homogenisasi sampel dengan air panas yang dikocok kuat selama 5 menit (Hasibuan & Edrianto, 2021). Hal ini dikarenakan busa yang terbentuk merupakan glikosida yang merupakan gugus polar dan gugus steroidtriterpenoid adalah gugus non polar, saat dilakukan pengocokan maka keduanya aktif dan membentuk misel (busa) (Agustin *et al.*, 2018).

Pada uji steroid-triterpenoid, masing-masing sampel konsentrasi sukrosa tidak menunjukkan adanya perubahan pada sampel, hal ini disebabkan sampel tidak dapat bereaksi dengan H_2SO_4 dalam pelarut. Menurut Sulistyarini *et al.*, (2020), reaksi positif uji steroid-triterpenoid ditandai dengan terbentuknya larutan berwarna merah pada uji pertama akibat air yang bereaksi dengan turunan asetil terhidrolisis saat ditambahkan H_2SO_4 . Selanjutnya, oksidasi pada senyawa steroid/triterpenoid menandakan pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi.

Tabel 3. Nilai rata-rata antioksidan sampel kalus bawang merah pada perlakuan sukrosa 30 g/L dan vitamin C

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Rata-rata absorbansi	% Inhibisi	IC ₅₀
Ekstrak Etanol bawang merah	20	0,243	7,0153	17,691
	40	0,213	18,6224	
	100	0,238	9,0561	
	200	0,220	15,9439	
	400	0,211	19,3878	
	20	0,239	8,4184	
Vitamin C	40	0,227	13,2653	7,10
	100	0,220	15,6888	
	200	0,200	23,3418	
	400	0,195	25,5102	

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada **Tabel 4**, dapat diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi yang diberikan, rata-rata absorbansi yang terbaca akan semakin mengecil, sehingga % inhibisinya semakin meningkat. Tuslinah *et al.*, (2022) menambahkan jika pengukuran aktivitas antioksidan ditandai dengan menurunnya absorbansi DPPH setelah ditambahkan dengan ekstrak. Absorbansi yang diukur adalah absorbansi sisa DPPH yang tidak bereaksi dengan senyawa aktoksidan. Semakin besar senyawa antioksidanya maka nilai absorbansi yang dihasilkan akan semakin kecil. Menandakan aktivitas sebagai penangkap radikal bebas semakin besar. Menurut Suwardi & Noer (2020), jika semakin banyak senyawa peredam radikal bebas yang diberikan maka semakin banyak pula elektron yang disumbangkan kepada radikal bebas DPPH. Hal tersebut akan ditandai dengan stabilnya energi DPPH diikuti dengan pudarnya warna ungu pada senyawa DPPH menjadi warna kuning. Perubahan tersebut dapat diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer Uv-Vis dengan panjang gelombang 517 berwarna warna violet gelap. Kemudian, aktivitas antioksidan tersebut dapat dibagi menjadi empat kategori, yaitu: jika nilai IC₅₀ <50 ppm berarti senyawa tersebut sangat kuat, 50 ppm - 100ppm berarti kuat, 100 ppm - 150 ppm berarti sedang, dan 150 ppm - 200 ppm termasuk dalam kategori lemah.

Berdasarkan kategori tersebut diketahui jika nilai IC₅₀ ekstrak kalus bawang merah kurang dari 50 ppm, yaitu sebesar 17,691 ppm tergolong dalam senyawa antioksidan sangat kuat. Pada vitamin C sebagai pembanding, nilai IC₅₀ sebesar 7,10 ppm yang juga termasuk dalam kategori antioksidan sangat kuat. Menurut Wachidah (2013), vitamin C digunakan sebagai kontrol positif yang larut didalam air. Vitamin C memiliki rumus C₆H₈O₆ yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan besar karena bersifat sebagai reduktor. Sifat reduktor disebabkan oleh mudahnya atom-atom hidrogen pada gugus hidroksil yang terikat pada atom C₂ dan C₃ (atom yang berikat rangkap), sehingga mampu dengan mudah menangkap dan mereduksi senyawa radikal bebas.

Pada uji aktivitas antioksidan nilai IC₅₀ ekstrak bawang merah yang didapatkan tergolong sangat kuat. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Tutik *et al.*, (2022), pada kulit bawang merah dengan metode maserasi dan DPPH didapatkan nilai IC₅₀ 15,64 ppm. Pada penelitian uji antioksidan kulit bawang merah yang dilakukan oleh Mardiah *et al.*, (2017), dengan metode meserasi dan DPPH mendapatkan nilai IC₅₀ sebesar 15,44 ppm termasuk kedalam senyawa antioksidan yang sangat kuat. Nilai IC₅₀ yang berbeda dapat dipengaruhi oleh beberapa hal. Menurut Tutik *et al.*, (2022) aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh metabolit sekunder golongan flavonoid, suhu yang digunakan dalam proses maserasi, dan jenis pelarut. Faidah *et al.*, (2020) menambahkan bahwa salah satu senyawa antioksidan yang berpengaruh adalah tanin yang merupakan senyawa polifenol dengan gugus -OH. Gugus tersebut diketahui dapat meredam dan menstabilkan radikal bebas. Pada senyawa flavonoid memiliki gugus -OH yang dapat melepaskan proton berbentuk ion hidrogen positif, ion tersebut akan mereduksi elektron radikal bebas.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa perlakuan sukrosa terbaik diperoleh pada konsentrasi 30 g/L dengan rata-rata waktu tumbuh kalus 33,6 hari, tekstur kalus remah-kompak, warna kuning muda, dan berat rata-rata kalus sebesar 0,583 ± 0,278 g. Nilai aktivitas antioksidan ekstrak kalus pada perlakuan sukrosa 30 g/L mencapai 17,691 ppm, yang tergolong dalam kategori antioksidan sangat

kuat. Kalus tersebut juga mengandung metabolit sekunder seperti alkaloid, fenolik, flavonoid, dan saponin. Penelitian lanjutan yang lebih lengkap dan mendetail terhadap kandungan kimia murni dalam ekstrak kalus bawang merah sangat disarankan untuk dilakukan.

KEPUSTAKAAN

- Alfian, R., & Susanti, H. (2012). Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol Kelopak Bunga Rosella Merah (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) dengan variasi Tempat Tumbuh Secara Spektrofotometri. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 2(1).
- Agustin, E., Andiarna, F., Lusia, N., Purnamasari, R., Hadi, M., & Irfan. (2018). Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Daun Jambu Air (*Syzygium aqueum*) dengan Perbandingan Beberapa Pelarut Pada Metode Maserasi. *Biotropic: The Journal of Tropical Biology*, 2(2), 108-118.
- Asif, N., Nawaz, S., Saleem, F., & Tabasum, S. (2022). Effects of Genotypes Explants and Plant Growth Regulator on In Vitro Callogenesis of Garlic. *Journal of Agricultural and Food*, 3(1), 10–21.
- Estaji, A., Chamani, E., & Khazaei, Z. (2021). Influence of Plant Growth Regulators on Callogenesis and on The Biomass of Cell Suspensions In Lily (*Lilium ledebourii* and *Lilium regal*). *Journal of Applied Biotechnology Reports*, 8(1), 63–70.
- Faidah, N., Ridhay, A., Razak, A. R., Bahri, S., Kimia, J., Matematika, F., Alam, P., Tadulako, U., Km, J. S., & Tadulako, K. B. (2020). Aktivitas Antioksidan Akar Bawang Merah Lokal Palu (*Allium cepa* Var *Aggergatum* L.) dengan Berbagai Kepolaran Pelarut, 6(3), 198-205.
- Hasibuan, A. S., & Edrianto, V. (2021). Sosialisasi Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Umbi Bawang Merah (*Allium cepa* L.), 1(1), 80–84.
- Husain, I. (2012). Induksi Protocorm Pada Eksplan Bawang Putih Pada Media MS Minim Hara Makro dan Mikro Yang Ditambahkan Air Kelapa. *Jurnal Agroteknotropika*, 1(1), 28–32.
- Inayah, T. (2015). Pengaruh Konsentrasi Sukrosa Pada Induksi Embrio Somatik Dua Kultivar Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* L.) secara in vitro. *Agribusiness Journal*, 9(1), 61–70.
- Karjadi, A. K. (2020). The Effect of Phytohormone Picloram and BAP On Shallot Meristematic Proliferation, 4, 288–297.
- Kurnianingsih, R., Ghazali, M., Rosidah, S., Muspiah, A., Astuti, S. P., & Nikmatullah, A. (2020). Pelatihan Teknik Dasar Kultur Jaringan Tumbuhan. *Jurnal Masyarakat Mandiri*, 4(5), 888–896.
- Kustiani, E. (2020). *Kultur Jaringan : Teori dan Praktek*. UNIK Press.
- Mardiah, N., Mulyanto, C., Amelia, A., Anggraeni, D., & Rahmawanty, D. (2017). Penentuan Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Kulit Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.) Dengan Metode DPPH. *Jurnal Pharmascience*, 04(2), 147–154.
- Marlin, Yulian, & Hermansyah. (2012). Inisiasi Kalus Embriogenik Pada Kultur Jantung Pisang ‘Curup’ Dengan Pemberian Sukrosa, BAP dan 2,4-D. *Jurnal Agrivigor*, 11(2), 275–283.
- Mutryarny, E. & Wulantika, T. (2020). Pengaruh ZPT Alami Terhadap Pertumbuhan dan Produksi Tanaman Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.). *Technology and Agriculture Journal*, 1(1), 1–6.
- Muzdalifah. (2017). Induksi Kalus Daun Nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth.) Dengan Penambahan Zat Pengatur Tumbuh Picloram dan Kinetin Secara In Vitro. Skripsi. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- ÖZEL, Ç. A., & Fatma, Ü. N. A. L. (2021). In Vitro Regeneration of *Muscari racemosum* Mill. Using Twin Bulb Scales, Primary Bulbs, and Leaf Bases. *ISPEC Journal of Agricultural Sciences*, 5(3), 714-727.
- Pebriana, F., Wiyatiningsih, S., & Nugrahani, P. (2019). Pengaruh Konsentrasi 6-Benzyl Aminopurine (BAP) Pada Media MS Terhadap Induksi Kultur Jaringan Cakram Bawang Merah. *Berkala Ilmiah Agroteknologi-Plumula*, 6(1), 1–13.
- Purba, L., Suminar, E., Sobardini, D., Rizky, W., & Mubarak, S. (2017). Pertumbuhan dan Perkembangan Jaringan Meristem Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.) Kultivar Katumi Secara In Vitro. *Jurnal Agro*, 4(2), 97–109.
- Purwanto, D., Bahri, S., & Ridhay, A. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Purnajiwa (*Kopsia arborea* Blume.) Dengan Berbagai Pelarut. *Kovalen: Jurnal Riset Kimia*, 3(1), 24.

- Rifkowitz, E. E. R. (2016). Pengaruh Ekstraksi Cara Basah dan Cara Kering Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Cengkodok (*Melastoma malabathricum* L.). *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 5(1).
- Rihadi, S. S. A., Soedomo, R. P., Sulandjari, K., & Laksono, R. A. (2021). Studi Karakteristik Agronomi Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.) Varietas Agrihorti-1 dan Mentas Dengan Bawang Daun Kultivar Lokal Kalimantan (*Allium fistulosum* L.) Di Dataran Tinggi Jawa Barat. *Agrovital : Jurnal Ilmu Pertanian*, 6(1), 16.
- Rukayah, S. (2018). Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh 2,4 D, Auksin dan Sitokinin Dalam Induksi Kalus Bawang Putih Tunggal (*Allium sativum*) Secara In-Vitro.
- Sari, Y. P., Kusumawati, E., Saleh, C., Kustiawan, W., & Sukartingsih, S. (2018). Effect of Sucrose and Plant Growth Regulators On Callusgenesis and Preliminary Secondary Metabolic Of Different Explant *Myrmecodia tuberosa*. *Nusantara Bioscience*, 10(3), 183–192.
- Setiawati, T., Ayalla, A., Nurzaman, M., Kusumaningtyas, V. A., & Bari, I. (2020). Analysis Of Secondary Metabolites Of Shoot, Callus Culture and Field Plant Of *Chrysanthemum morifolium* Ramat. *Jurnal Ilmu Dasar*, 21(1), 1.
- Shofiyani, A., Purnawanto, A. M., & Pratikaa, L. (2020). Pengaruh Jenis Media dan Konsentrasi Sukrosa Terhadap Produksi Kalus Kencur (*Kaempferia galanga* L.). *Seminar Nasional*, 656–661.
- Simanjuntak, H. A., & Butar - Butar, M. (2019). Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol Umbi Bawang Merah (*Allium cepa* L.) Terhadap *Candida albicans* dan *Pityrosporum ovale*. *Eksakta: Jurnal Penelitian dan Pembelajaran MIPA*, 4(2), 91.
- Solichah, A., Herdyastuti, N., Kimia, J., & Surabaya, U. N. (2021). Pengaruh lama Pemanasan Proses Fermentasi Terhadap Kadar Fenolik Total dan Aktivitas Antioksidan Bawang Hitam. *Journal of Chemistry*, 10(3), 280–287.
- Sulistyarini, I., Sari, D. A., & Wicaksono, T. A. (2020). Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga (*Hyocereus polyrhizus*). *Jurnal Ilmiah Cendikia Eksakta*, 5(1), 56–62.
- Suwardi, F. & Noer, S. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.). *Sinasis: Seminar Nasional Sains*, 1(1), 117-120.
- Tuslinah, L., Elkanawati, R. Y., & Dewi, R. (2022). Pengaruh Proses Fermentasi Bawang Putih Lanang (*Allium Sativum* L.) Terhadap Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). *Journal Of Pharmacopolium*, 5(3), 251–261.
- Tutik, T., Putri, G. A. R., & Lisnawati, L. (2022). Perbandingan Metode Maserasi, Perkolasi dan Ultrasonik Terhadap Aktivitas Antioksidan Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L.). *Jurnal Ilmu Kedokteran dan Kesehatan*, 9(3), 913–923.
- Tyas, K. N., Susanto, S., Dewi, I. S., & Khumaida, N. (2016). Organogenesis Secara Langsung Pada Pamelon (*Citrus maxima* (Burm.) Merr.). *Buletin Kebun Raya*, 19(1), 1–10.
- Ulva, M., Nurchayati, Y., Prihastanti, E., & Setiari, N. (2019). Pertumbuhan Kalus Tomat (*Lycopersicon esculentum* mill.) Varietas Permata F1 Dari Jenis Eksplan dan konsentrasi Sukrosa Yang Berbeda Secara In Vitro. *Life Science*, 8(3), 160–169.
- Wachidah, L. N. (2013). Uji Aktivitas Antioksidan Serta Penentuan Kandungan Fenolat dan Flavonoid Total Dari Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume). *Skripsi*. Jakarta: Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Wahyuni, D. K., Huda, A., Faizah, S., Purnobasuki, H., Prajogo, B., & Wardojo, E. (2020). Effects of Light , Sucrose Concentration and repetitive Subculture on Callus Growth and Medically Important Production In (*Justicia gendarussa* Burm. f.). *Biotechnology Reports*, 27, e00473.
- Wulaisfan, R., Musdalipah, & Nurhadiah. (2018). Aktivitas Ekstrak Kulit Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus* Mutans Penyebab Karies Gigi. *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa*, 1(2), 126–132.
- Yusnita. (2015). Kultur Jaringan Tanaman Sebagai Teknik Penting Bioteknologi Untuk Menunjang Pembangunan Pertanian. Penerbit Aura Publishing, 1–86.
- Zubair, M. S., Widodo, A., Fatmasari, M., De'e, F., & Nugrahani, A. W. (2021). Evaluation Of Antioxidant and Antifungal Properties Of Palu Shallot (*Allium ascalonicum* l var. *aggregatum*). *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, 9(2), S215–S221.

Zulkarnain, Z. (2009). Kultur Jaringan Tanaman: Solusi Perbanyak Tanaman Budidaya. Bumi Aksara.