

PRODUKSIBIBIT KENCUR (*Kaempferia galanga* L.)
MELALUIKULTUR JARINGAN
[Kencur {*Kaempferia galanga* L.} Seedling Production Through *in vitro* Culture]

Endang Gati Lestari^{A1} dan Sri Hutami

Indonesian Center for Agricultural Biotechnology and Genetik Resources Research and Development

JLTentaraPelajar 3ABogor
[borif\(S\).indonet.id](mailto:borif(S).indonet.id)

ABSTRACT

To increase domestic and international demand of Kencur (*Kaempferia galanga* L.) makes this plant potentially develop. Is traditionally used to keep the body warm, as analgetic and expectorant. In the attemp of providing adequately and qualitatively uniformed supply, *in vitro* experiment has been conducted at BB-Biogen (Indonesian Center for Agricultural Biotechnology and Genetik Resources Research and Development).The selected rhizomes was used as explant. The experiment was orthogonally arranged consisting of MS vitamin and B5, and BA (0, 3 and 5 mg/l) and thidiazuron 0,1 mg/l. This experiment comprised three activities, they were shoot initiation, shoot multiplication and acclimatization. The result showed that MS + BA 3 mg/l + thidiazuron 0,2 mg/l could induce shoot formation. From the applied media, it was shown that the addition of MS vitamin at the MS basic media and BA 3 and 5 mg/l added with thidiazuron could result the most optimum shoot, leaves and roots and was not significantly different from the addition of B5 vitamin at basic media of MS + BA 3 and 5 mg/l, 6.9 shoot was averagely produced in this media. The shoot could generate such an adequate number of root that it could be directly acclimatized. The acclimatized plantlet in the green house uses the mixture of soil and manure with the ratio of 1:1 can optimally grow.

Kata kunci: kencur, kultur jaringan, aklimatisasi

PENDAHULUAN

Kencur merupakan terna kecil yang termasuk dalam suku tumbuhan Zingiberaceae. Rimpangnya mengandungpati (4,14%), mineral (13,73%) dan minyak atsiri (0,02%) berupa sineol, asam metil, kanil, metyl-peumatic acid, cinamiacid etyl-ester dll, khasiatnya adalah untuk menghangatkan badan, menghilangkan rasa sakit, memudahkan pengeluaran angin dari tubuh serta mengencerkan dahak.

Kebutuhan rimpang kencur sebagai bahan baku untuk membuat ramuan jamu pada PT Sidomuncul per tahun bisa mencapai 120 ton kering dan memerlukan pasokan yang kontinyu sehingga diperlukan ketersediaan bahan tanaman yang stabil. Volume ekspor tanaman obat termasuk kencur hingga kini mencapai 9,149 ton/tahun dan terus meningkat tiap tahunnya; pasar ekspor yang cukup bagus untuk tanaman obat saat ini ialah Eropa dan Timur tengah (Anon, 2005).

Masyarakat Indonesia selama berabad-abad telah menyadari bahwa biofarmaka berperan penting sebagai obat berkhasiat tetapi budidaya terhadap komoditas tersebut masih relatif terbatas. Menyadari hal ini perlu dibangun sentra-sentra tanaman obat di

berbagai wilayah Indonesia. Dengan demikian kebutuhan bibit yang seragam dan berkualitas menjadi semakin meningkat.

Teknik yang dapat diterapkan dalam perbanyak bibit yang cepat adalah melalui kultur *in vitro* untuk meningkatkan pembentukan anakan. Dengan manipulasi formulasi media dasar dan zat pengatur tumbuh dapat mengoptimalkan aktivitas pembelahan sel untuk multiplikasi tunas. Keuntungan pengadaan bibit melalui kultur jaringan adalah dapat diperoleh bahan tanaman yang unggul dalam jumlah banyak dan seragam dalam waktu yang singkat; selain itu dapat diperoleh biakan steril (mother stock) sehingga dapat digunakan sebagai bahan untuk perbanyak selanjutnya.

Media tumbuh yang umum digunakan dalam perbanyak tanaman melalui kultur *in vitro* adalah medium dasar MS (Murashige dan Skoog) (Dixon, 1985). Media MS merupakan media dasar yang umum digunakan untuk perbanyak sebagian besar tanaman seperti pada tanaman obat (Gati dan Mariska, 1997). Media dasar tersebut kaya akan mineral yang merangsang terjadinya organogenesis. Namun demikian beberapa tanaman lebih sesuai terhadap media

yang mempunyai kandungan total ion lebih tinggi dari media dasar MS yaitu media dasar DKW (Driver and Kuniyuki).

Penggunaan zat pengatur tumbuh seperti sitokinin dan auksin untuk menginduksi multiplikasi tunas tergantung dari jenis tanaman dan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang digunakan. Zat pengatur tumbuh BA (Benzyl Adenin) paling banyak digunakan karena mempunyai aktivitas yang kuat dibanding kinetin. Zat pengatur tumbuh BA adalah golongan sitokinin yang banyak digunakan akhir-akhir ini (Zaer dan Mapes, 1982). Walaupun struktur dasarnya sama dengan kinetin akan tetapi lebih efektif bila dibandingkan dengan kinetin, karena BA mempunyai gugus benzil (George dan Sherington, 1984).

Di samping sitokinin, penggunaan thidiazuron (TDZ) dapat pula meningkatkan laju multiplikasi. Lu (1993) menyatakan bahwa senyawa tersebut dapat menginduksi pembentukan tunas adventif dan proliferasi tunas aksilar. Diduga thidiazuron mendorong terjadinya perubahan sitokinin ribonukleotida menjadi ribonukleosida yang secara biologis lebih aktif (Capella *etal* [sitasi Lu](#), 1996).

Tujuan penelitian adalah untuk mendapatkan formulasi media yang dapat mendorong multiplikasi tunas dengan optimal.

BAHANDANMETODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan, Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian pada bulan April 2004 -April 2005. Kegiatan penelitian terdiri atas inisiasi tunas, perbanyakan *in vitro* dan aklimatisasi plantlet di rumah kaca.

Tahap inisiasi

Eksplan yang digunakan adalah mata tunas berukuran ± 1 cm, diambil dari rimpang. Eksplan tersebut dicuci menggunakan air mengalir dan deterjen sampai bersih. Kemudian disterilisasi berturut-turut menggunakan larutan $HgCl_2$ 0,2% selama 2 menit, kloroks 30% selama 5 menit, kloroks 20% selama 7 menit dan terakhir dibilas menggunakan air steril sebanyak 3 kali.

Eksplan yang telah disterilisasi kemudian ditanam pada media untuk inisiasi tunas, yaitu media dasar MS + BA 3 mg/1 + thidiazuron 0,2 mg/1.

Perbanyakan *in vitro*

Tunas hasil inisiasi dipindah ke media baru untuk mempercepat laju multiplikasi. Setelah diperoleh tunas dalam jumlah banyak selanjutnya digunakan untuk perlakuan *in vitro*. Percobaan disusun secara kontras orthogonal dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan terdiri dari dua macam media yaitu media dasar MS dengan vitamin MS dan media dasar MS dengan vitamin B5 (formulasi Gamborg) serta macam zat pengatur tumbuh BA (0, 1, 3 dan 5 mg/1) + thidiazuron (TDZ) 0,1 mg/1. Media yang digunakan adalah media padat dengan penambahan agar swallow 7,5 g/1. Kemasaman (pH) media dibuat 5,7 dengan menambahkan KOH atau HCl IN. Untuk meningkatkan laju multiplikasi tunas maka tunas yang dihasilkan dipotong-potong dan disubkultur pada media baru dengan komposisi yang sama dengan media inisiasi tunas yaitu media dasar MS + BA 3 mg/1 + TDZ 0,2 mg/1.

Biakan yang telah ditanam dalam botol kultur selanjutnya diletakkan didalam ruang kultur dengan penyinaran menggunakan lampu TL dengan intensitas cahaya sebesar 1500 lux selama 16 jam sehari. Pengamatan dilakukan setiap 2 minggu. Peubah yang diamati ialah waktu pembentukan tunas, jumlah tunas, tinggi tunas, jumlah daun pembentukan akar dan visual biakan.

Rancangan percobaan adalah kontras orthogonal terdiri atas perlakuan vitamin MS dan B5, zat pengatur tumbuh BA (0,1,3 dan 5 mg/1) serta thidiazuron 0,1 mg/1.

Aklimatisasi

Aklimatisasi plantlet dilakukan di rumah kaca menggunakan media tumbuh tanati + pupuk kandang dengan perbandingan 1:1. Biakan yang akan diaklimatisasi dikeluarkan dari botol kemudian akarnya dicuci menggunakan air mengalir untuk menghilangkan agar-agar yang menempel di akar. Plantlet kemudian ditanam pada media untuk aklimatisasi dan disungkup menggunakan plastik untuk menghindari penguapan

yang terlalu tinggi. Sungkup dibuka apabila tunas sudah tampak tegar, kira-kira 2-3 minggu setelah tanam.

HASIL

Inisiasi tunas

Inisiasi tunas bertujuan untuk mendapatkan biakan sebagai sumber perbanyakan *in vitro*, karena eksplan awal yang digunakan diambil dari lapang dan tingkat kontaminasinya cukup tinggi seperti bakteri dan jamur yang dapat menghambat pembentukan dan perkembangan jaringan tanaman.

Eksplan berupa mata tunas yang ditanam pada media induksi tunas sudah mulai tumbuh membentuk nodul-nodul bakal tunas pada minggu ke-2 setelah tanam. Pada minggu ke-4 setelah tanam sudah menghasilkan beberapa bakal tunas yang siap untuk disubkultur. Pertumbuhan tunas setelah disubkultur pada media yang baru (MS + BA 3 mg/l + TDZ 0,2 mg/l) tampak lebih cepat bila dibandingkan dengan media tanpa zpt; hal ini menunjukkan bahwa eksplan yang ditanam memberikan respon yang baik pada media yang digunakan.

Perbanyakan *in vitro*

Analisis statistik dilakukan terhadap berbagai perlakuan yang dikontraskan antara vitamin MS dan vitamin B5, kombinasi dengan TDZ dan BA serta perbedaan konsentrasi BA pada pemberian vitamin yang berbeda. Hasil menunjukkan bahwa penggunaan vitamin yang berbeda yaitu vitamin dari MS dan B5 (Gamborg) yang ditambahkan pada media dasar MS tanpa penambahan sitokinin memberikan hasil yang tidak berbeda nyata terhadap pembentukan tunas pada minggu ke-9 demikian pula peningkatan konsentrasi BA dari 1 sampai 5 mg/l.

Hasil yang berbeda nyata dan sangat berbeda nyata diperoleh dari penambahan thidiazuron pada media dasar MS + vitamin MS dan ditambahkan BA. Pada formulasi media tersebut peningkatan konsentrasi BA dari 1 sampai 5 mg/l dalam media yang mengandung thidiazuron menghasilkan tunas lebih banyak dibandingkan pada media MS tanpa BA. Semakin tinggi BA yang diberikan yaitu sebesar 3 dan 5 mg/l maka tunas yang dihasilkan semakin banyak yaitu 6,9 (BA 5) dibandingkan 3,3 (BA3) (Tabel 1).

Pemberian BA 1 dan 5 mg/l pada media dasar MS + vitamin B5 dapat meningkatkan banyaknya tunas dengan nyata dibanding dengan media kontrol; semakin tinggi zat pengatur tumbuh BA yang diberikan (3 dan 5 mg/l) maka tunas yang dihasilkan semakin banyak. Pada media MS + vitamin B5 dengan pemberian BA 3 mg/l menghasilkan jumlah rata-rata tunas sebanyak 2,3 sedangkan pada pemberian BA 5 mg/l menghasilkan tunas 6,9.

Penambahan thidiazuron pada media MS + vit B5 tanpa BA menghasilkan tunas tidak berbeda nyata bila dibandingkan dengan pada media dasar MS + vit B5 yang ditambah BA (1,3 dan 5 mg/l); sedangkan penambahan TDZ pada media dasar MS + vit MS mampu meningkatkan multiplikasi tunas (Tabel 1).

Tabel 1. Rata-rata jumlah tunas yang dikontraskan, pada minggu ke 9 setelah tanam.

Kontras	Rata-rata	Keterangan
MS vs MB	3,4 vs 3,5	tidak nyata
MS B vs MS BT	2,5 vs 4,4	sangat nyata
Mb B vs Mb BT	3,6 vs 3,5	tidak nyata
MSB0vsMS(B1,3,5)	2,2 vs 2,6	tidak nyata
MSB1 vsMS(B3,5)	2,7 vs 2,5	tidak nyata
MS B3 vs MS B5	2,5 vs 2,5	tidak nyata
MSB0TvsMS(B1,3,5)T	2,9 vs 4,8	sangat nyata
MSB1TvsMS(B3,5)T	4,3 vs 5,1	tidak nyata
MS B3T vs MS B5 T	3,3 vs 6,9	sangat nyata
Mb B0 vs Mb (B 1,3,5)	2,3 vs 4,0	nyata
MbB1 vsMb(B3,5)	2,9 vs 4,6	nyata
Mb B3 vs Mb B5	2,3 vs 6,9	sangat nyata
MbB0TvsMb(1,3,5)T	2,5 vs 3,8	tidak nyata
MbB1 TvsMb(B3,5)T	5,6 vs 2,9	sangat nyata
Mb B3 T vs Mb B5T	2,3 vs 3,4	tidak nyata

Keterangan: MS = vitamin MS, Mb = vitamin B5, B= BA, T = thidiazuron

Pembentukan tunas pada berbagai formulasi media dapat dilihat pada Foto 1.1-1.4).

Jumlah daun

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa rata-rata jumlah daun yang dihasilkan oleh kultur pada media yang mengandung vitamin MS dan vitamin formulasi B5 pada media dasar MS dan pemberian TDZ serta BA (1, 3 dan 5 mg/l) yang dikontraskan, menunjukkan bahwa hasil yang berbeda nya diperoleh dari pemberian

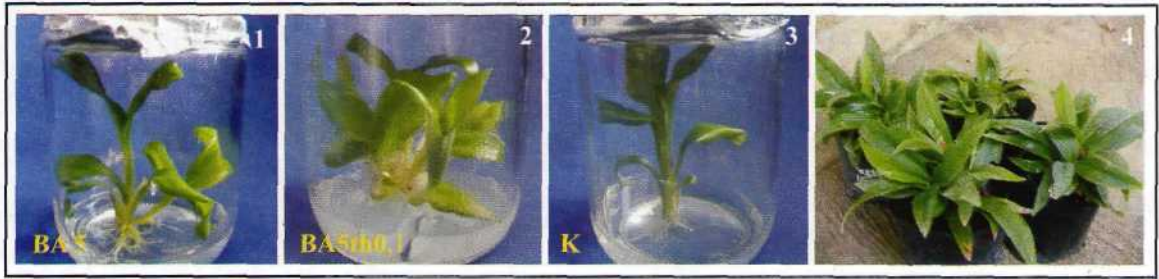


Foto 1. Pembentukan tunas pada berbagai media dan bibit hasil Aklimatisasi.

thidiazuron 0,1 mg/1 pada media dasar MS + vitamin MS, serta pemberian BA (1,3 dan 5 mg/1) + thidiazuron. Sedangkan penggunaan vitamin yang berbeda tidak memberikan hasil yang berbeda nyata demikian pula perlakuan lainnya (Tabel 2)

Tabel2. Rata-rata perlakuan yang dikontraskan (jumlah daun) minggu ke-9.

Kontras	Rata-rata		Keterangan
MS vsMb	9,7	vs 9,7	tidak nyata
MS B vs MS BT	7,9	vs 11,5	Sangat nyata
MSB vsMbbT	9,6	vs 9,7	tidak nyata
MSB0vsMS(B1,3,5)	6,0	vs 8,5	tidak nyata
MSB1 vsMS(B3,5)	7,9	vs 8,8	tidak nyata
MSB3vsMSB5	7,7	vs 9,8	tidak nyata
MSB0TvsMS(B1,3,5)T	9,0	vs 12,3	sangat nyata
MSBITvsMS(B3,5)T	11,8	vs 12,6	tidak nyata
MSB3TvsMSB5T	10,6	vs 14,6	sangat nyata
MbB0vsMb(B1,3,5)	8,1	vs 10,1	tidak nyata
MbB1vsMb(B3,5)	8,5	vs 11,0	tidak nyata
Mb B3 vs Mb B5	7,3	vs 14,6	sangat nyata
MbB0TvsMb(B1,3,5)T	8,9	vs 10,7	nyata
Mb BIT vs Mb (B3,5)T	11,8	vs 10,7	tidak nyata
MbB3TvsMbB5T	9,0	vs 11,2	tidak nyata

Keterangan: MS = vitamin MS, Mb = vitamin B5, B= BA, T = thidiazuron

Jumlah akar

Pengamatan terhadap pembentukan akar menunjukkan bahwa akar dapat terbentuk walaupun tanpa memindahkan tunas ke dalam media untuk induksi akar dan akar yang dihasilkan jumlahnya 5-10. Rata-rata jumlah akar pada masing-masing perlakuan vitamin, TDZ serta zat pengatur tumbuh B A yang dikontraskan menunjukkan adanya hasil yang berbeda nyata pada penambahan thidiazuron dan peningkatan konsentrasi

BA pada media dasar MS + vitamin B5. Jumlah akar pada media tanpa thidiazuron hanya 7, sedangkan pada media yang mengandung thidiazuron menjadi 10,6 (Tabel 2). Hasil yang sebaliknya dihasilkan pada perlakuan thidiazuron yang ditambahkan pada media MS + vitamin MS, akar yang dihasilkan menjadi lebih sedikit.

Peningkatan konsentrasi BA dari 3 mg/1 menjadi 5 mg/1 mampu meningkatkan jumlah akar. Pada media dasar MS + vitamin MS + BA 3 mg/1 kultur / tunas menghasilkan akar rata-rata sebanyak 8,7 sedang pada media dengan pemberian BA 5 mg/1, akar yang dihasilkan sebanyak 11,7. Hal yang sama terjadi pada penambahan vitamin B5 pemberian BA 3 mg/1

Tabel3. Rata-rata perlakuan yang dikontraskan (jumlah akar), minggu ke -9 setelah tanam.

Kontras	Rata-rata		Keterangan
MS vs Mb	8,6	vs 8,7	tidak nyata
MS B vs MS BT	9,6	vs 7,5	sangat nyata
Mb B vs Mb BT	7,0	vs 10,3	sangat nyata
MS B0 vs MS (B 1,3,5)	9,2	vs 9,7	tidak nyata
MSB1 vsMS(B3,5)	8,8	vs 10,2	tidak nyata
MSB3vsMSB5	8,7	vs 11,7	nyata
MSB0TvsMS(B1,3,5)T	5,8	vs 8,1	tidak nyata
MSBITvsMS(3,5)T	8,5	vs 7,9	tidak nyata
MSB3TvsMS5T	8,2	vs 7,5	tidak nyata
MbB0vsMb(B1,3,5)	8,5	vs 6,5	tidak nyata
MbB1 vsMb(B3,5)	6,0	vs 6,7	tidak nyata
Mb B3 vs Mb B5	5,3	vs 8,1	Nyata
MbB0TvsMb(B1,3,5)T	8,5	vs 10,9	Nyata
MbBITvsMb(B3,5)T	10,7	vs 11,1	tidak nyata
Mb B3T vs Mb5T	11,7	vs 10,4	tidak nyata

Keterangan: MS = vitamin MS, Mb = vitamin B5, B = BA, T = thidiazuron

menghasilkan akar sebanyak 5,1 sedangkan pada media yang mengandung BA 5 mg/l menghasilkan akar sebanyak 8,1.

Aklimatisasi plantlet pada media campuran tanah dan pupuk kandang menunjukkan bahwa hampir semua plantlet yang diaklimatisasi dapat tumbuh normal.

PEMBAHASAN

Jumlah tunas

Vitamin MS dan B 5 yang ditambahkan ke dalam media dasar MS ternyata tidak memberikan hasil yang berbeda nyata terhadap jumlah tunas. Demikian pula peningkatan zat pengatur tumbuh BA dari 1 mg/l sampai 5 mg/l pada media dasar MS + vitamin MS. Kemampuan tunas berproliferasi tanpa adanya zat pengatur tumbuh BA menunjukkan bahwa biakan tersebut mengandung sitokinin endogen yang cukup tinggi sehingga multiplikasi tunas dapat dihasilkan pada media tanpa BA.

Vitamin yang ditambahkan ke dalam media dasar MS berperan penting dalam mengaktifkan reaksi-reaksi enzimatik. Perbedaan kandungan senyawa pada vitamin MS dan B5 ialah, pada MS terdiri dari (Thyamin HCl 0,01 mg/l, Pyridoxin HCl 0,05 mg/l; Nicotinic acid 0,05 mg/l dan glicin 0,2 mg/l); sedangkan vitamin B5 terdiri dari (Thyamin HCl 1,0 mg/l, Pyridoxin HCl 0,1 mg/l, Nicotinic acid 0,1 mg/l tanpa glicin). Tampaknya perbedaan konsentrasi pada kedua jenis vitamin tersebut tidak dapat memberikan hasil yang berbeda untuk pertumbuhan eksplan.

Peningkatan jumlah tunas diperoleh pada pemakaian thidiazuron 0,1 mg/l yang ditambahkan pada media dasar MS + vitamin B5 dan BA (1,3 dan 5 mg/l). Dengan demikian thidiazuron yang diberikan mampu meningkatkan kemampuan multiplikasi tunas. Thidiazuron merupakan senyawa organik yang banyak digunakan dalam perbanyakan *in vitro* karena aktifitasnya menyerupai sitokinin (Pierik, 1987; Singha and Bathia, 1988). Kanyand *et al.* (1994), mendapatkan tingkat multiplikasi tunas yang tinggi pada regenerasi kacang tanah menggunakan TDZ 3 mg/l bila dibandingkan hanya menggunakan BA. Pada Foto, dapat dilihat perbedaan antara biakan yang dihasilkan

dari media tanpa TDZ (1.1) dan pada media dengan TDZ (1.2) pada media tersebut tunas yang dihasilkan lebih gemuk dibandingkan media tanpa zat pengatur tumbuh (1.3).

Thidiazuron yang diberikan mampu meningkatkan proliferasi tunas apabila dikombinasikan dengan BA 3 dan 5 mg/l, sehingga tunas yang dihasilkan menjadi lebih banyak. Demikian pula peningkatan konsentrasi BA mampu meningkatkan laju multiplikasi tunas. Kombinasi BA 3 dan 5 mg/l dengan thidiazuron 0,1 mg/l dan vitamin MS dianggap efektif untuk meningkatkan laju multiplikasi tunas.

Pada media dasar MS + vitamin B5 dan BA 5 mg/l tanpa penambahan TDZ jumlah tunas yang dihasilkan sebanyak 6,9 buah (Tabel 1). Dalam media tersebut walaupun tanpa thidiazuron ternyata tunas yang dihasilkan sama dengan pada perlakuan vitamin MS + BA dan TDZ. Hal ini menunjukkan bahwa untuk mendapatkan laju multiplikasi tunas perlu adanya kombinasi beberapa unsur yang tepat seperti vitamin, zat pengatur tumbuh dan media dasar.

Pemberian thidiazuron pada media dasar MS + vitamin MS sangat nyata meningkatkan jumlah tunas sedangkan pada media dasar MS + vitamin B5 memberikan hasil yang tidak berbeda nyata. Aktifitas pembelahan sel dalam proses diferensiasi dan morfogenesis dapat dipacu dengan adanya berbagai unsur dalam media kultur; demikian pula peranan kombinasi antara unsur-unsur yang ada di dalam vitamin dari media dasar MS dengan thidiazuron ternyata mampu meningkatkan kemampuan eksplan melakukan multiplikasi.

BA merupakan zat pengatur tumbuh yang banyak digunakan untuk induksi multiplikasi tunas akhir-akhir ini (Zaer dan Mapes, 1982; Gunawan, 1987), BA mempunyai struktur yang sama dengan kinetin, akan tetapi lebih efektif bila dibandingkan dengan kinetin karena BA mempunyai gugus benzil (George dan Sherington, 1984). Umumnya tanaman memiliki respon yang lebih baik terhadap BA dibanding terhadap kinetin dan 2-iP sehingga BA lebih efektif untuk produksi tunas *in vitro* pada banyak tanaman (Flick *et al.*, 1993), contohnya pada tanaman kehutanan *Acacia* sp, *Eucalyptus ficifolia*, *Santalum album*, *Tectona grandis* (Zaer dan Mapes, 1982). Kombinasi

B A dengan thidiazuron pada berbagai tanaman berhasil memacu aktifitas multiplikasi tunas

Pada penelitian ini penggunaan TDZ lebih tepat apabila ditambahkan pada media yang mengandung vitamin MS dan zat pengatur tumbuh BA. Sedangkan apabila menggunakan vitamin B5 tidak perlu menambahkan TDZ dalam media. Sesuai dengan pernyataan Skoog dan Miller (1957) dalam Murch *et al.* (1997), menyatakan bahwa pertumbuhan dan diferensiasi tanaman merupakan interaksi antara zat pengatur tumbuh (auksin atau sitokinin) dan zat lainnya, baik yang ditambahkan ke dalam media atau yang sudah ada di dalam jaringan tanaman.

Jumlah akar

Peningkatan jumlah akar di sini berhubungan dengan kemampuan multiplikasi tunas karena penggunaan thidiazuron dan BA 5 mg/l menyebabkan produksi tunas meningkat sehingga jumlah akar per tunas juga menjadi lebih banyak.

Pada media tanpa penambahan BA ternyata akar yang dihasilkan juga banyak, namun akar terbanyak dihasilkan pada media dengan pemakaian BA 5 mg/l. Hal ini terkait dengan pembentukan tunas yang cukup tinggi pada media dengan penambahan zat pengatur tumbuh B A 5 mg/l.

Terbentuknya akar pada biakan tersebut walaupun pada media induksi tunas sangat menguntungkan, karena tidak memerlukan subkultur pada media baru untuk induksi akar. Hasil yang sama diperoleh pada perbanyakan temu putri (*Curcuma petiolata*) (Yelnititis dan Gati, 1994).

Jumlah daun

Peningkatan jumlah daun yang sangat nyata dihasilkan dari penambahan thidiazuron dan peningkatan konsentrasi B A dari 3 mg/l sampai 5 mg/l, pada media dengan penambahan vitamin MS dan vitamin MS. Pada formulasi media tersebut pembentukan tunas dan daun dapat ditingkatkan secara optimal. Sementara ini formulasi tersebut dianggap tepat untuk mendorong pembentukan tunas dan daun.

Biakan yang dihasilkan masih tampak segar sampai bulan ke-10 setelah tanam tanpa harus segera disubkultur. Subkultur yang dilakukan pada biakan yang berumur 10 bulan menunjukkan tingkat

multiplikasi yang masih tinggi, yaitu rata-rata tunas yang dihasilkan sebanyak 6-8 per eksplan. Dengan demikian pengadaan bibit melalui kultur jaringan lebih efektif karena biakan di dalam botol dapat bertahan dalam waktu yang lama dan dapat diperbanyak sewaktu-waktu diperlukan.

Plantlet yang diaklimatisasi dapat tumbuh normal dan menunjukkan pertumbuhan yang optimal (Foto 1.4), kemungkinan karena plantlet yang diaklimatisasi mempunyai akar yang banyak dan panjangnya lebih dari 5 cm. Yang menentukan keberhasilan aklimatisasi antara lain jumlah dan panjang akar serta kualitas akar. Akar yang tebal dan bercabang-cabang memberikan tingkat keberhasilan aklimatisasi yang tinggi. Plantlet yang dapat tumbuh dalam kondisi *ex vitro* sebanyak 95 %.

KESEVPULAN

Komposisi Media terbaik untuk multiplikasi tunas adalah media dasar MS + vitamin MS + thidiazuron 0,1 mg/l + BA 3 dan 5 mg/l atau media dasar MS + vit B5+ BA 3 dan 5 mg/l. Pada kombinasi media tersebut menghasilkan daun dan akar paling banyak. Biakan yang telah disimpan selama 10 bulan masih tampak segar dan kemampuan multiplikasinya tetap tinggi.

Plantlet yang diaklimatisasi menggunakan campuran tanah dan pupuk kandang dapat tumbuh dengan baik dan mencapai 95%.

DAFTAR PUSTAKA

- Anon. 2005. Tanaman Obat Indonesia, <http://www.eooele.co.id/search-kencur>
www.ipitek.net.id/ind/cakra_obat/tanamanobat.php?id=137. (25 Oktober 2005).
- Dixon RA. 1985. Isolation and Maintenance of callus and Cell Suspension Cultures. *In: Plant Cell Culture the Practical Approach*. RA Dixon (Ed.). IRL. Oxford, 1-20.
- Dodds JH and Roberts LW. 1982. *Experiments in Plants Tissue Culture*. Cambridge University.
- Flick CE, Evans DA and Sharp WR. 1993. Organogenesis p 13-81 . *In: DA Evans, WR Sharp, PV Amirato, Y Yamada (Eds.)*.

Handbook of Plant Cell Culture. Collier Macmillan.

- Gati E dan Mariska I. 1997.** Kultur *in vitro* sebagai metode pelestarian tumbuhan obat langka. *Buletin. Plasma Nutfah II* (1), 1-8.
- George EF and Sherington PD. 1984.** *Plant Propagation by Tissue Culture*. Handbook and Directory of Commercial Laboratories. Exegetic, England.
- Gunawan LW. 1987.** *Teknik Kultur Jaringan*. Pusat Antar Universitas (PAU). Bioteknologi IPB, Bogor.
- Heloir Me JE, Fournior L, Ozrol and Bessis R. 1997.** An improved procedure for propagation *in vitro* axillary-but microcutting. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 49, 223-225.
- Hutami S dan Purnamaningsih R. 2003.** Perbanyakan klonal temu mangga (*Curcuma mangga*) melalui kultur *in vitro*. *Buletin Plasma Nutfah* 19 (1), 39-44.
- Kanyand M, Dessai AP and Prakash CS. 1994.** Thidiazuron promotes high frequency regeneration of peanut (*Arachis hypogaea*) plants *in vitro*. *Plant Cell Report* 14,1-5.
- Lu CY. 1993.** The use of thidiazuron in tissue culture *in vitro*. *Cell Dev. Biol.* 29, 92-96.
- Murch SJ, Krishnaraj S and Saxena PK. 1997.** Thidiazuron induced morphogenesis of *Regal geranium (Pelargonium domesticum)*: A potential stress response. *Physiologia Plantarum* 101, 183:191.
- Pierik RLM. 1987.** *In vitro* Culture of Higher Plants. Martinus Nijhoff, London.
- Singha S and Bathia SK. 1988.** Shoot proliferation of pear culture on medium containing thidiazuron and benzyl aminopurine. *Hort Science* 23, 803-806.
- Yelnititis dan Gati E. 1994.** Upaya pelestarian tanaman obat langka temu putri melalui kultur jaringan. *Prosiding Seminar hasil Penelitian dan pengembangan Bioteknologi II*, Cibinong, 6-7 September 1994.
- Zaer and Mapes. 1982.** Action of growth regeneration *In Bonga and Durzan (Eds.)*. *Tissue Culture in Forestry*. Martinus Nijhoff, London, 231-235.