

Regenerasi Tanaman Sedap Malam Melalui Organogenesis dan Embriogenesis Somatik

Roostika, I., I. Mariska, dan R. Purnamaningsih

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian

Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16114

Naskah diterima tanggal 6 September 2004 dan disetujui untuk diterbitkan tanggal 9 Agustus 2005

ABSTRAK. Secara konvensional perbanyak tanaman sedap malam dilakukan melalui umbi. Semakin kecil ukuran umbi semakin lama tanaman berbunga. Penerapan teknik kultur in vitro diharapkan dapat membantu perbanyak tanaman secara masal. Hingga saat ini, teknik kultur in vitro tanaman sedap malam belum pernah dilaporkan di Indonesia. Penelitian ini bertujuan memperoleh formulasi media yang efektif menginduksi organogenesis dan embriogenesis kultur in vitro tanaman sedap malam serta memacu regenerasinya. Percobaan dibagi menjadi 4 tahap, yaitu (1) induksi tunas, (2) multiplikasi tunas, (3) induksi kalus embriogenik, dan (4) regenerasi kalus embriogenik. Media induksi tunas yang diuji adalah MS+BA 0 ppm, MS+BA 3 ppm, MS+BA 5 ppm, dan MS+BA 7 ppm. Pemacuan multiplikasi tunas lanjut dilakukan pada media subkultur MS+BA 7 ppm+glutamin 100 ppm, MS+BA 7 ppm, DKW+TDZ 7 ppm, dan DKW+TDZ 7 ppm+glutamin 100 ppm. Untuk induksi kalus embriogenik, media induksi kalus yang diujikan adalah MS+2,4-D 2,5 ppm, MS +2,4-D 5 ppm, dan MS+2,4-D 10 ppm. Untuk meregenerasikan kalus embriogenik, media yang diujikan MS+BA 2 ppm+TDZ 0,2 ppm, MS+BA 3 ppm+TDZ 0,4 ppm, MS+zeatin 1 ppm+kinetin 1 ppm, dan MS+zeatin 0,5 ppm+kinetin 2 ppm. Hasil percobaan menunjukkan bahwa pembentukan tunas terbanyak diperoleh dari media BA 3 ppm (80%) namun inisiasi tunas tercepat dihasilkan pada media BA 0 ppm. Formula media MS+BA 7 ppm+glutamin 100 ppm menghasilkan jumlah tunas dan akar terbanyak. Penggunaan MS+2,4-D 5 ppm dapat menginduksi kalus embriogenik dengan persentase pembentukan nodul sebesar 18,75% dan jumlah nodul yang terbentuk sebanyak 3,6 dengan visual kalus yang paling baik. Setelah disubkultur, calon tunas terbanyak (17) dihasilkan dari perlakuan MS+BA 2 ppm+TDZ 0,4 ppm. Kalus embriogenik pada media MS+zeatin 0,5 ppm+kinetin 2 ppm dapat berkembang membentuk benih somatik.

Katakunci: *Polianthes tuberosa*; Organogenesis; Embriogenesis somatik; Media

ABSTRACT. Roostika, I., I. Mariska, and R. Purnamaningsih. 2005. **Regeneration of tuberose through organogenesis and embryogenesis.** Tuberose is normally propagated by the tuber. The smaller size of tuber the longer time plant to flower. The application of in vitro culture technique might be used for mass propagation. Up to know, the research of in vitro culture of tuberose in Indonesia has not been reported. The objective of the study was to find out media formulation for organogenesis and embryogenesis. The experiments consisted of 4 steps of (1) shoot induction, (2) shoot multiplication, (3) induction of embryogenic callus, and (4) regeneration of embryogenic callus. The treatments for shoot induction were MS+BA 0 ppm, MS+BA 3 ppm, MS+BA 5 ppm, and MS+BA 7 ppm. The shoots were multiplied on media MS+BA 7 ppm+glutamine 100 ppm, MS+BA 7 ppm, DKW+TDZ 7 ppm, and DKW+TDZ 7 ppm+glutamin 100 ppm. For induction of embryogenic callus, the treatments were MS+2,4-D 2.5 ppm, MS+2,4-D 5 ppm, and MS+2,4-D 10 ppm. For regeneration of embryogenic callus, the treatments were MS+BA 2 ppm+TDZ 0.2 ppm, MS+BA 3 ppm +TDZ 0.4 ppm, MS+zeatin 1 ppm+kinetin 1 ppm, and MS+zeatin 0.5 ppm+kinetin 2 ppm. The results showed that the highest shoot formation was obtained from media MS+BA 3 ppm but the earliest shoot initiation was obtained from media MS+BA 0 ppm. The media formulation of MS+BA 7 ppm+glutamine 100 ppm gave the highest number of shoot and root. The application of media MS+2,4-D 5 ppm could induce embryogenic callus with high percentage of nodul formation (18.75%) and high number of nodul (3.6) with the best visual calli. After subculturing, the highest number of nodul (17) was obtained from media MS+BA 2 ppm+TDZ 0.4 ppm. The embryogenic callus from media MS+zeatin 0.5 ppm+kinetin 2 ppm could develop to form somatic seed.

Keywords: *Polianthes tuberosa*; Organogenesis; Somatic embryogenesis; Media

Tanaman sedap malam (*Polianthes tuberosa*) merupakan tanaman introduksi yang berasal dari Meksiko, berkerabat dekat dengan tanaman bawang-bawangan atau famili Amaryllidaceae (Heyne 1950). Tanaman tersebut telah beradaptasi dengan lingkungan tropis di Indonesia, bahkan telah di-

canangkan oleh Pemerintah Daerah Jawa Timur sebagai maskot flora (Murtiningsih *et al.* 2000).

Bunga sedap malam banyak digunakan sebagai bunga potong, bunga tabur, dan bahan baku industri minyak atsiri, (Suyanti *et al.* 1997;

Muhajir dan Amiarsi 2000). Permintaan pasar terhadap bunga sedap malam cukup tinggi terutama pada saat banyak pesta dan perayaan hari-hari besar agama. Namun demikian produsen belum sepenuhnya dapat memenuhi permintaan pasar.

Perbanyak tanaman sedap malam pada umumnya dilakukan secara vegetatif. Perbanyak secara konvensional dapat dilakukan melalui *bulb* (umbi). Kekurangan dari teknik perbanyak tersebut adalah rendahnya jumlah bibit yang dihasilkan (Sharga 1982 dalam Suyanti *et al.* 1997). Dalam rangka memperoleh bibit tanaman sedap malam dalam jumlah yang besar dan seragam maka perlu diterapkan teknologi alternatif, seperti teknik kultur in vitro.

Hingga saat ini tidak banyak dijumpai varietas tanaman sedap malam. Tampaknya, pemuliaan secara konvensional menghadapi beberapa keterbatasan seperti sempitnya keragaman genetik. Keragaman tanaman sedap malam umumnya masih didasarkan atas tipe bunganya, yaitu tipe tunggal (engkel), semi ganda, dan ganda. Warna bunga yang umum dijumpai adalah warna putih (Suyanti *et al.* 1997; Muhajir dan Sitorus 2000). Variasi warna bunga sedap malam dan ketahanan keseagarannya biasanya dilakukan dengan melakukan pewarnaan dan pencelupan dalam larutan gula atau *pulsing* (Suyanti *et al.* 1997; Murtiningsih *et al.* 2000). Di China, kegiatan pemuliaan sudah menghasilkan tanaman dengan bunga berwarna merah jambu, ungu kemerahan, ungu, jingga, dan kuning, juga menghasilkan tanaman kerdil (Shen *et al.* 2002). Dalam hal ini, penguasaan teknik regenerasi kultur in vitro sedap malam berpotensi untuk membantu usaha pemuliaan dalam meningkatkan variabilitas genetik atau memunculkan sifat-sifat tertentu seperti warna dan bentuk bunga yang bervariasi, kadar minyak atsiri yang lebih tinggi, atau bahkan tipe tanaman kerdil yang cocok sebagai tanaman pot. Selain itu, penguasaan teknik regenerasi tersebut juga dapat diterapkan untuk manipulasi genetik tanaman melalui rekayasa genetika.

Menurut Purnamaningsih (2003), penggandaan biakan dalam kultur in vitro dapat dilakukan melalui jalur organogenesis dan embriogenesis somatik. Organogenesis merupakan proses pembentukan dan perkembangan tunas dari jaringan meristem tunas, sedangkan embriogenesis somatik merupakan proses regenerasi melalui pembentukan struktur menyerupai embrio (*embrioid*) dari sel-sel somatik yang telah memiliki calon akar dan tunas (serupa embrio zigotik) (Pardal 2003).

Di Indonesia, teknik kultur in vitro tanaman

sedap malam belum pernah dilaporkan. Berdasarkan studi pendahuluan, salah satu kendala yang cukup sulit ditangani adalah teknik sterilisasi bahan tanaman. Bahan tanaman yang berupa umbi atau *bulb* sangat berpeluang terkontaminasi oleh bakteri dan jamur. Selain itu juga diketahui bahwa respons in vitro tanaman sedap malam cukup lama. Dalam hal ini, formulasi media yang sesuai akan sangat membantu meningkatkan pertumbuhan planlet terutama dalam menggandakan tunas dan menginduksi embriogenesis.

Penelitian ini bertujuan memperoleh formulasi media yang efektif untuk menginduksi organogenesis dan embriogenesis kultur in vitro tanaman sedap malam serta memacu regenerasinya.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian mulai tahun 2001 sampai 2003.

Tanaman yang digunakan adalah tanaman sedap malam dengan bunga tipe ganda jenis Cianjur. Bahan tanaman yang digunakan adalah *bulb* yang disterilisasi secara berturut-turut menggunakan alkohol 70% selama 8 menit, HgCl₂ 0,2% selama 2 menit, Clorox 30% selama 7 menit dan selanjutnya Clorox 20% selama 5 menit. Setelah itu *bulb* ditanam pada media MS (Murashige dan Skoog).

A. Organogenesis

Induksi tunas

Eksplan yang digunakan adalah *bulb* yang mengandung tunas yang telah steril. *Bulb* ditanam pada media induksi tunas, yaitu MS+BA 0 ppm, MS+BA 3 ppm, MS+BA 5 ppm, dan MS+BA 7 ppm. Setiap perlakuan diulang sebanyak 5 kali. Pengamatan dilakukan terhadap persentase eksplan yang membentuk tunas baru, persentase eksplan yang berakar, waktu inisiasi tunas, dan waktu inisiasi akar.

Multiplikasi tunas

Bulb yang telah bertunas (hasil percobaan induksi tunas) dipacu penggandaan tunasnya dengan memindahkan ke media yang sama yang

ditambah thidiazuron (TDZ) 0,4 ppm. Pemacuan multiplikasi tunas selanjutnya dilakukan pada media (subkultur) MS+BA 7 ppm+glutamin 100 ppm, MS+BA 7 ppm, DKW+TDZ 7 ppm, dan DKW+TDZ 7 ppm+glutamin 100 ppm. Setiap perlakuan diulang sebanyak 5 kali, namun karena terjadi kontaminasi maka beberapa perlakuan hanya diulang 2–4 kali. Pengamatan dilakukan terhadap jumlah tunas baru yang muncul, jumlah akar yang terbentuk, dan penampakan visual kultur.

B. Embriogenesis somatik

Induksi kalus embriogenik

Eksplan berupa potongan daun yang berukuran sekitar 1cm² yang berasal dari tunas in vitro. Potongan daun dicacah dengan pisau untuk merangsang pertumbuhan kalus. Selanjutnya eksplan ditanam pada media induksi kalus. Media induksi kalus yang diuji adalah MS+2,4-D 2,5 ppm, MS+2,4D 5 ppm, dan MS+2,4-D 10 ppm. Setiap perlakuan diulang sebanyak 4 kali dan setiap ulangan terdiri atas 4 eksplan. Pengamatan dilakukan terhadap persentase eksplan yang mampu membentuk kalus, persentase eksplan yang membentuk nodul embriogenik, dan jumlah nodul yang muncul.

Regenerasi kalus embriogenik

Pada awalnya dilakukan induksi kalus terhadap potongan daun berukuran sekitar 1cm² pada media induksi yang terbaik berdasarkan percobaan 2 (multiplikasi tunas) sehingga terbentuk nodul-nodul yang embriogenik. Kumpulan nodul tersebut digunakan sebagai eksplan pada percobaan regenerasi. Regenerasi dilakukan pada media MS+BA 2 ppm+TDZ 0,2 ppm, MS+BA 3 ppm+TDZ 0,4 ppm, MS+zeatin 1 ppm+kinetin 1 ppm, dan MS+zeatin 0,5 ppm+kinetin 2 ppm. Setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali, namun karena adanya kontaminasi, maka beberapa perlakuan mempunyai 1–2 ulangan. Pengamatan dilakukan terhadap persentase jaringan yang masih hijau, jumlah calon tunas, jumlah calon akar, dan jumlah benih somatik.

Seluruh eksplan/kultur diinkubasikan pada rak-rak kultur dengan kondisi suhu 25-28°C dan fotoperiodisitas 16 jam terang dengan intensitas 800 lux dan 8 jam gelap.

Data diolah dengan analisis aritmatik untuk mendapatkan rata-rata ± standar deviasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Organogenesis

Induksi tunas

Bahan tanaman sedap malam yang berupa *bulb* sangat sulit disterilisasi. Pada mulanya hampir semua eksplan mengalami kontaminasi baik oleh jamur maupun oleh bakteri. Tingginya tingkat kontaminasi disebabkan karena *bulb* telah terkontaminasi mikroorganisme internal dari tanah. Sterilisasi secara berturut-turut menggunakan alkohol 70% selama 8 menit, HgCl₂ 0,2% selama 2 menit, Clorox 30% selama 7 menit dan selanjutnya Clorox 20% selama 5 menit, maka didapatkan persentase eksplan steril sebesar 96%.

Penggunaan bensil adenin (BA) dalam media dimaksudkan untuk memacu pembentukan tunas. Bensil Adenin merupakan sitokinin yang mempunyai daya aktivitas kuat, sehingga dapat memacu pembelahan sel dengan cepat. Dari berbagai konsentrasi BA yang diujikan, terlihat bahwa semua perlakuan dapat menginduksi pembentukan tunas dengan persentase pembentukan tunas yang berbeda (Tabel 1). Persentase pembentukan tunas tertinggi diperoleh dari media BA 3 ppm (80%), sedangkan inisiasi tunas tercepat dihasilkan pada media kontrol BA 0 ppm (9 hari). Peningkatan konsentrasi BA hingga 7 ppm ternyata tidak dapat meningkatkan persentase pembentukan tunas. Pada taraf BA 7 ppm, eksplan yang dapat bertunas hanya mencapai 40%, tetapi paling banyak membentuk nodul/calon-calon tunas adventif dan menyebabkan pertumbuhan akar menjadi terhambat. Nodul-nodul tersebut tidak berhasil tumbuh membentuk tunas yang sempurna hingga 5 minggu setelah tanam. Hal ini menunjukkan bahwa media yang digunakan tersebut tidak sesuai. Dengan demikian, persentase eksplan bertunas merupakan peubah yang terpenting untuk menentukan jenis media yang paling cocok. Oleh karena itu dapat dinyatakan bahwa konsentrasi BA 3 ppm merupakan media yang paling sesuai untuk induksi tunas, sedangkan konsentrasi BA 7 ppm berpotensi diterapkan pada tahap multiplikasi tunas.

Multiplikasi tunas

Sedap malam termasuk tanaman tahunan, sehingga respons terhadap media yang digunakan

juga sangat lambat. Untuk memacu multiplikasi tunas maka eksplan harus dipindahkan berulang kali (subkultur) pada media baru dengan kandungan sitokinin yang tinggi. Di antara jenis sitokinin, BA merupakan sitokinin yang mempunyai aktivitas yang paling kuat dengan tingkat persistensi yang paling lama. Penggunaannya pada konsentrasi yang tinggi diharapkan dapat memacu proses pembelahan sel dan penggandaan tunas. Huettman dan Preece (1993) melaporkan bahwa penggunaan TDZ pada konsentrasi tinggi mampu menyebabkan proliferasi tunas aksilar dan tunas adventif pada beberapa spesies tanaman tahunan. Oleh karena itu pada percobaan ini digunakan BA dan TDZ pada konsentrasi 7 ppm sesuai dengan hasil percobaan induksi tunas.

Hasil percobaan multiplikasi tunas menunjukkan bahwa pertumbuhan eksplan membentuk calon tunas ganda dan akar mulai terlihat pada umur 5 bulan setelah tanam (Tabel 2).

Berdasarkan data pada Tabel 1, eksplan di subkultur pada media yang mengandung sitokinin dan glutamin agar dapat lebih memacu proliferasi tunas. Juga dicoba penggunaan jenis media dasar DKW (Driver-Kuniyaki) yang mempunyai kandungan unsur hara yang jauh lebih tinggi daripada MS yang dikombinasikan dengan TDZ yang merupakan senyawa sintetik yang mempunyai fungsi fisiologis dengan aktivitas yang sangat kuat sama dengan sitokinin. Menurut Huettman dan Preece (1993), TDZ biasa digunakan untuk mikropropagasi karena dapat merangsang organogenesis tunas. Penggunaan senyawa terse-

but dapat menyebabkan proliferasi tunas yang lebih pesat yang mungkin dikarenakan adanya perbedaan proses penyerapan bahan oleh sel atau mekanisme kerja senyawa sitokinin. Selanjutnya, kombinasi media DKW dengan TDZ diharapkan mampu meningkatkan laju penggandaan tunas.

Hasil percobaan menunjukkan bahwa penggunaan formulasi media MS+BA 7 ppm+glutamin 100 ppm menghasilkan jumlah tunas tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Demikian juga dengan jumlah akar yang terbentuk. Pemakaian media DKW yang dikombinasikan dengan TDZ tampak kurang memberikan hasil yang baik. Mariska *et al.* (1995) melaporkan bahwa penggunaan media dasar DKW ternyata tidak dapat memacu pembentukan tunas ganda Purwoceng dibandingkan dengan penggunaan media dasar MS. Rendahnya jumlah tunas dan akar kultur sedap malam diduga karena kandungan unsur hara di dalam media DKW terlalu tinggi dan ditambah lagi dengan penggunaan TDZ yang mempunyai aktivitas sangat kuat sehingga menyebabkan pembelahan sel yang cepat pada bagian dasar *bulb*. Hal ini menyebabkan dasar *bulb* menggebung dan tidak memperlihatkan pertumbuhan yang beraturan. Akan tetapi ketika *bulb* tersebut dibuka dan disubkultur pada media lain (MS + BA 7 ppm + glutamin 100 ppm), ternyata bagian dalam *bulb* tersebut membentuk banyak calon tunas dan tunas baru (Gambar 1).

B. Embriogenesis

Induksi kalus embriogenik

Ketika eksplan daun diisolasi dan ditanam,

Tabel 1. Pengaruh zat pengatur tumbuh BA terhadap pertumbuhan *bulb* sedap malam, umur 5 minggu setelah tanam (*The effect of plant growth regulator of BA to the growth of tuberose bulb, 5 weeks after planting*)

Perlakuan (Treatment) BA (ppm)	Eksplan bertunas (Shooted explant) %	Eksplan berakar (Rooted explant) %	Waktu inisiasi tunas (Time of root initiation) Hari (Days)	Waktu inisiasi akar (Time of root initiation) Hari (Days)
0	40	20	9 ± 3,3	14 ± 0
3	80	20	19,5 ± 3,2	22 ± 0
5	20	20	13 ± 0	19 ± 0
7	40	0	13 ± 8,3	-

BA = Bensil adenin

Tabel 2. Pengaruh media subkultur terhadap pertumbuhan tunas sedap malam, 5 bulan setelah tanam (The effect of subculture media on growth of tuberose shoot, 5 months after planting)

Media subkultur (Subculture media)	Jumlah tunas (Number of shoots)	Jumlah akar (Number of roots)	Penampakan visual (Visual performance)
MS+BA 7+ glul00	2,3 ±1,53	3,0 ±3,0	Akar tumbuh bagus (Big growth root)
MS+BA 7	1,0 ±0	0	Kultur tak berakar (Unrooted)
DEW+TDZ7	1,4 ±0,55	0,4 ±1,34	Ujung akar menggembung (Swollen root tip)
DEW+TDZ7+glul00	1,7 ±1,15	0,3 ±0,57	Dasar akar menggembung (Sub base swollen)

BA = Bensil adenin (ppm), Glu = Glutamin (ppm), TDZ = Thidiazuron (ppm).

persentase pembentukan kalus tertinggi diperoleh dari media dengan penambahan 2,4-D 2,5 ppm, yaitu sebesar 45% dengan persentase eksplan bernodul 18,75%. Sebaliknya persentase eksplan berkalus paling rendah (31,3%) dihasilkan dari perlakuan MS + 2,4-D 5 ppm dengan eksplan yang dapat membentuk nodul sebesar 18,75%. Namun demikian jumlah nodul yang terbentuk pada media tersebut paling banyak (3,56) dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Selain itu struktur kalus yang dihasilkan pada media tersebut juga paling baik, yaitu transparan, mengkilat, dan terpisah-pisah antarnodulnya (Tabel 3 dan Gambar 2). Penggunaan 2,4-D 10 ppm tampaknya terlalu tinggi sehingga menyebabkan pembelahan sel yang terus menerus sehingga membentuk kalus yang rapuh tanpa mengarah pada pembentukan struktur yang lebih spesifik (nodul atau calon tunas) sehingga kultur tidak mampu berkembang lebih lanjut. Berbeda dengan induksi kalus embriogenik pada pepaya, penggunaan 2,4-D 20 ppm merupakan perlakuan terbaik (Hutami *et al.* 2001).

Regenerasi kalus embriogenik

Kalus embriogenik yang terbentuk diharapkan mampu berkecambah membentuk struktur embriosomatik. Oleh karena itu, kalus-kalus tersebut perlu dipindahkan ke media yang baru. Namun demikian, ketika kalus disubkultur ke media MS + BA 7 ppm + TDZ 0,4 ppm, pertumbuhan kalus menjadi pesat tetapi tidak terarah ke pembentukan organ tertentu walaupun terdapat satu struktur yang mampu berkecambah dan memperlihatkan calon tunas dan calon akar (Gambar 2). Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan formulasi media masih kurang efektif untuk mendukung perkecambahan dalam membentuk calon tunas

dan calon akar. Kemungkinan hal ini disebabkan oleh penggunaan sitokinin BA yang terlalu tinggi ataupun perlunya penggunaan sitokinin jenis lain, seperti zeatin atau kinetin. Dengan demikian perlu dicari formulasi media lainnya.

Berdasarkan Tabel 4 terlihat bahwa calon tunas terbanyak dihasilkan dari perlakuan MS+BA 2 ppm+TDZ 0,4 ppm yang semuanya memiliki warna jaringan yang hijau (100%). Akan tetapi calon tunas yang ada tidak mampu berkembang menjadi tunas dewasa (jumlah tunas dewasa 0%). Apabila konsentrasi BA dinaikkan menjadi 3 ppm (pada media MS+BA 3 ppm+TDZ 0,4 ppm), maka jumlah calon tunas menurun. Hal serupa terjadi pada embriogenesis ubi kayu di mana jumlah embriosomatik dan jumlah embriosomatik yang bertunas lebih tinggi pada media dengan kandungan BA rendah (0,1ppm) dibandingkan pada media dengan kandungan BA lebih tinggi (0,7ppm) (Raemakers *et al.* 1993). Kultur yang tumbuh pada media MS+zeatin 0,5 ppm+kinetin 2 ppm tampaknya dapat berkembang membentuk benih somatik. Struktur globular mampu tumbuh dan berkembang menjadi struktur hati dan struktur torpedo, dan akhirnya terbentuk benih somatik (Gambar 3). Purnamaningsih (2003) menyatakan bahwa terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi pembentukan embriosomatik, antara lain jenis eksplan, sumber nitrogen, dan gula serta zat pengatur tumbuh. Menurut Mariska (2003), penggunaan sitokinin, zeatin, atau kinetin dapat meregenerasikan kalus embriogenik kedelai. Selanjutnya berdasarkan percobaan Raemakers *et al.* (1993), penggunaan zeatin 0,1-0,7 ppm mampu merangsang pertunasan embriosomatik ubi kayu.

KESIMPULAN

Tabel 3. Pengaruh zat pengatur tumbuh auksin terhadap pertumbuhan kalus sedap malam, umur 4 bulan setelah tanam (*The effect of plant growth regulator of auxin to the growth of tuberose callus, 4 months after planting*)

Perlakuan (Treatment) ppm	Ekspansi berkalus (Callused explant) %		Ekspansi benodul (Nodulated explant) %	
	%		%	
2,4-D2,5	45,0 ± 31,88		18,75	
2,4-D5	31,3 ± 47,32		18,75	
2,4-D10	43,8 ± 12,30		14,25	

2,4-D = 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid

Tabel 4. Pengaruh media subkultur terhadap pertumbuhan kalus sedap malam, umur 2 bulan setelah tanam (*The effect of subculture media to the growth of tuberose callus, 2 months after planting*)

Perlakuan (Treatment) ppm	Jaringan hijau (Chloroplastine) %	Jumlah calon tunas (Number of nodes)	Jumlah calon akar (Number of roots)	Jumlah tunas dewasa (Number of developed nodes)
BA 3 TDZ 0,2	100	17 ± 2,83	0	0
BA 3 TDZ 0,4	90	45 ± 0,71	4 ± 1,41	0
ZKI	90	0	3 ± 0	0
Z0,5K 2	82	1,3 ± 1,53	0,7 ± 0,58	1 ± 0

BA = Benzil adenine, TDZ = Thidiazuron, Z = Zeatin, K = Kinetin.

1. Pembentukan tunas terbanyak diperoleh dari media BA 3 ppm (80%) namun inisiasi tunas tercepat dihasilkan pada media kontrol BA 0 ppm. Formulasi media MS+BA 7 ppm+glutamin 100 ppm menghasilkan jumlah tunas dan jumlah akar terbanyak.
2. Penggunaan MS+2,4-D 5 ppm dapat menginduksi kalus embriogenik dengan persentase pembentukan nodul (calon tunas) dan jumlah nodul tertinggi. Setelah disubkultur, calon tunas terbanyak dihasilkan dari perlakuan MS+BA 2 ppm+TDZ 0,4 ppm (17). Kalus embriogenik yang tumbuh pada media MS+Zeatin 0,5 ppm+Kinetin 2 ppm dapat berkembang membentuk planlet somatik.

- Jakarta.
4. Mariska, I., R. Purnamaningsih dan M. Kosmiatin. 1995. Pertumbuhan biakan purwoceng pada berbagai medium dasar. hlm. 250-256. *Dalam Prosiding Kongres Ilmu Pengetahuan Nasional VI*. 11-15 September. Jakarta.
5. _____. 2003. Peningkatan ketahanan terhadap aluminium pada pertanaman kedelai melalui kultur *in vitro*. Laporan Riset Unggulan Terpadu VIII-Bidang Teknologi Hasil Pertanian. Kementerian Riset dan Teknologi RI-Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia.
6. Muhajir, I. dan E. Sitorus. 2000. Peran derajat ketuaan, pendinginan awal, dan suhu penyimpanan untuk memperpanjang kesegaran bunga sedap malam. *J. Hort.* 10(2):137-143.
7. _____ dan D. Amiarsi. 2000. Peran derajat ketuaan bunga, lama *pulsing*, dan suhu keragaan terhadap mutu dan umur keragaan bunga sedap malam. *J. Hort.* 10(3):220-225.
8. Murtiningsih, W., Suyanti, dan Setiadjit. 2000. Peranan *pulsing* terhadap mutu bunga sedap malam potong. *J. Hort.* (3):209-213.
9. Pardal, S.J. 2003. Perkembangan penelitian regenerasi dan transformasi pada tanaman kedelai. *Bul. Agrobio.* 5(2):37-44.
10. Purnamaningsih, R. 2003. Regenerasi tanaman melalui embryogenesis somatic dan beberapa gen yang mengendalikannya. *Bul. Agrobio.* 5(2):51-58.
11. Raemakers, C.J.J.M., J.J.E. Bessembinder, G. Staritsky, E. Jacobsen, and R.G.F. Visser. 1993. Induction, germination and shoot development of somatic embryos in cassava. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 33:151-156.
12. Shen, T., R. Shen, K. Huang, and B. Du. 2002. Breeding

PUSTAKA

1. Heyne, K. 1950. *De Nuttige Planten Van Indonesia* N.V. Utigeverijw van Hoeve's Gravenhage. Bandung.
2. Huettelman, C.A. and J.E. Preece. 1993. Thidiazuron: a potent cytokinin for woody plant tissue culture. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 33:105-119.
3. Hutami, S., I. Mariska, R. Purnamaningsih, M. Herman, D. Damayanti and T.I.R. Utami. 2001. Regeneration of papaya (*Carica papaya* L.) through somatic embryogenesis. *In. Proc. Of the 2nd Indonesian Biotechnology Conference*. Indonesian Biotechnology Consortium.

of dwarf tuberose *Polianthes tuberosa* L. In *Proceeding of International Horticultural Congress XXVIIth*. 12 August. Toronto.

13. Suyanti, W. Murtiningsih, dan I. Muhajir. 1997. Pengaruh pewarnaan usai panen terhadap mutu bunga sedap malam. *J. Hort.* 7(2):692-700.

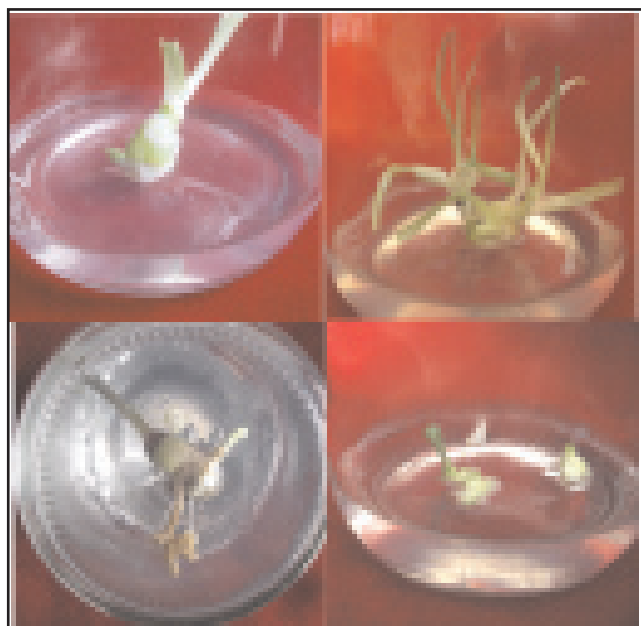
Lampiran Gambar

Gambar 1. Tahapan multiplikasi tunas sedap malam (A). tunas yang tumbuh pada media induksi tunas (B). tunas yang mengalami multiplikasi pada media MS+BA 7ppm+TDZ 0,4ppm (C). penampakan akar, dan (D) pertumbuhan tunas adventif dari dalam bulb setelah subkultur (*The steps of shoot multiplication of tuberose (A) shoot*

that grew on media for shoot induction (B) multiplied shoot on media MS + BA 7ppm + TDZ 0,4ppm (C). root, and (D) growth of adventitious shoots from bulb inside).

Gambar 2. Pertumbuhan kalus sedap malam pada media (A) MS + 2,4-D5ppm (B) MS + BA 7ppm + TDZ 0,4ppm (C) MS + BA 2ppm + TDZ 0,2ppm, dan (D) MS + BA 3ppm + TDZ 0,4ppm. (*The growth of callus of tuberose on media (A) MS +*

2,4-D5ppm, (B) MS + BA 7ppm + TDZ 0,4ppm, (C) MS + BA 2ppm + TDZ



0,2ppm, dan (D) MS + BA 3ppm + TDZ 0,4ppm).

Gambar 3. Tahap pembentukan embriosomatik sedap malam (A) struktur globular (bulat) dan struktur hati (lonjong), (B) struktur torpedo yang tumbuh lebih lanjut, (C) meristem tunas pucuk dan primordia daun, (D) pemanjangan tunas, (E) meristem ujung akar (transparan), dan (F) akar (*The stage of somatic embryo of tuberose (A) globular structure (globe) and heart structure (oval), (B) torpedo structure that have developed, (C) meristem of apical shoot and leaves primordial, (D) longevity of shoot, (E) meristem of apical root (transparent), and (F) root.*)

