

# PERANAN KULTUR JARINGAN UNTUK PENGADAAN BENIH UNGGUL

*Endang G. Lestari*

*Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian*

*Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111, Indonesia*

## PENDAHULUAN

Teknik kultur jaringan sangat bermanfaat tidak hanya untuk memperbanyak benih unggul secara massal tetapi dapat diaplikasikan untuk penyimpanan berbagai plasma nutfah tanaman yang mempunyai nilai ekonomi dan tergolong langka (Siddique *et al.* 2015). Selain itu dapat diaplikasikan untuk memperbanyak tanaman hasil pemuliaan, hasil introduksi atau tanaman yang tidak menghasilkan biji dan sulit diperbanyak secara vegetatif (Siddique *et al.* 2015; Ślesak *et al.* 2013; Sharma *et al.* 2015; Kumar & Reddy 2011).

Mikropropagasi tanaman, dilakukan dengan menumbuhkan sel, jaringan atau organ yang telah diisolasi dari tanaman induknya pada media buatan dalam kondisi aseptik dan lingkungan terkontrol (Kumar & Reddy 2011). Tujuan mikropropagasi antara lain produksi massal untuk tujuan komersial atau untuk penelitian (Lestari 2008; Kumar & Reddy 2014; Thorpe 2006).

Aplikasi kultur jaringan semakin meluas penggunaannya terutama untuk penyediaan benih secara massal, murah dan bebas patogen pada tanaman hortikultura, pangan dan industri seperti tanaman hias, anggrek, mawar, krisan maupun tanaman yang

mempunyai nilai ekonomi tinggi seperti kopi, coklat, jati, nenas, kentang, tebu dan pisang (Siddique *et al.* 2015; Akin-Idowu *et al.* 2009; Behera & Sahoo 2009). Pada tanaman kantong semar (*Nepenthes* spp.) telah dikembangkan secara komersial di laboratorium kebun raya LIPI (Isnaini 2015). Teknik kultur jaringan pada tanaman tebu telah diaplikasikan untuk menghasilkan benih dalam jumlah besar dengan waktu yang relatif singkat, pertumbuhan seragam, bebas patogen, dan produksi bibit yang tidak tergantung musim (Farid 2003; Jalaja *et al.* 2008; Behera & Sahoo 2009).

Aplikasi kultur jaringan antara lain:

1. Perbaikan genetik pada tanaman yang mempunyai nilai ekonomi melalui seleksi sel atau jaringan untuk mendapatkan sifat tertentu seperti toleran kekeringan, toleran lahan masam atau lahan salin dan resisten terhadap penyakit.
2. Memproduksi benih secara missal.
3. Produksi metabolit sekunder.
4. Membiakkan sel hasil hasil fusi protoplas.
5. Penyelamatan embrio yaitu menumbuhkan embrio hasil persilangan antara spesies yang jauh kekerabatannya agar embrio dapat tumbuh dan berkembang.
6. Mengembangkan tanaman haploid ganda berasal dari kultur antera atau kultur ovul.
7. Meregenerasikan tanaman hasil transformasi genetik.
8. Penyimpanan dan pelestarian plasma nutfah pada tanaman yang diperbanyak secara vegetatif (Akin-Idowu *et al.*, 2009; Sharma *et al.*, 2015; Lestari 2008; Kumar & Reddy 2011).

Keberhasilan meregenerasikan jaringan atau organ di dalam kultur jaringan menjadi kunci utama untuk perkembangan bioteknologi untuk mendukung program perakitan varietas unggul seperti transformasi gen, fusi protoplas dan kultur antera (Gantait *et al.* 2010; Ślesak *et al.* 2013; Iqbal *et al.* 2016; Ahmadpour *et al.* 2017; Siddique *et al.* 2015).

Efisiensi regenerasi tanaman tergantung pada eksplan dan media yang digunakan, sebagai contoh pada tanaman *buffel grass* (*Conchrusciliaris* L.) dapat menghasilkan embrio somatik dari eksplan embrio masak yang ditumbuhkan pada media dengan pemberian zat pengatur tumbuh (zpt) 2,4-D dikombinasikan dengan BA (Colomba *et al.* 2006). Induksi kalus dan regenerasi tunas pada tanaman gandum kultivar *Zhoumai 18* dan *Yumai 34*, telah dilakukan menggunakan media L3 (Ren *et al.* 2010). Satyavathi *et al.* (2004) menggunakan zat pengatur tumbuh 2,4-D, picloram dan dicamba untuk induksi dan regenerasi kalus dari eksplan skutelum *durum wheat*, hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa penggunaan media MS dan Dicamba merupakan perlakuan terbaik untuk produksi kalus embriogenik dan regenerasi tunas dari eksplan skutelum. Induksi kalus pada tanaman gandum yang dilakukan oleh Iqbal *et al.* (2016) diperoleh komposisi media terbaik 2,4-D 4-6 mg/l. Ślesak *et al.* (2013) menyatakan bahwa pengetahuan untuk meregenerasikan sel menjadi tanaman lengkap sangat penting untuk mendukung keberhasilan transformasi.

## **KEUNTUNGAN PERBANYAKAN TANAMAN MENGUNAKAN TEKNIK KULTUR JARINGAN**

- Waktu yang diperlukan relatif singkat, bahan yang diperlukan tidak banyak, bibit yang dihasilkan mempunyai sifat sama dengan induknya (Akin-Idowu *et al.* 2009; Sharma *et al.* 2015).
- Menghasilkan bibit dalam jumlah banyak dan seragam
- Tidak memerlukan tempat yang luas.
- Tidak tergantung musim untuk pengadaannya.
- Dapat diperbanyak kapan saja saat diperlukan dan memungkinkan adanya pertukaran antar Negara terhadap akses-aksesi yang diperlukan.

- Mendukung program perakitan varietas baru melalui transformasi, fusiprotoplas, pemuliaan *in vitro* dll (Akin-Idowu *et al.* 2009).

## **BEBERAPA KELEMAHAN TEKNIK KULTUR JARINGAN:**

- Kestabilan genetik tidak selalu dapat dipertahankan.
- Tingkat keberhasilan tergantung pada optimalisasi genotipe, penyakit (patogen eksternal dan internal), juvenilitas, seleksi bahan tanaman serta pengaruh media dan zat pengatur tumbuh yang digunakan.

Tujuan penulisan buku ini adalah untuk memberikan informasi tentang manfaat kultur jaringan, khususnya untuk perbanyakan benih, serta faktor-faktor yang mempengaruhi keberhasilan mikropropagasi dan keuntungan penggunaan kultur jaringan untuk perbanyakan benih unggul.

### ***Faktor-faktor yang Mempengaruhi Keberhasilan Mikropropagasi***

Faktor yang mempengaruhi keberhasilan regenerasi tanaman secara *in vitro* antara lain: jenis dan ukuran eksplan, umur tanaman sebagai tanaman induk, tekanan osmotik pada medium (konsentrasi sukrosa), intensitas cahaya, jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh (Kumar & Reddy 2011), serta komposisi media (Ahmadpour *et al.* 2008). Komponen media meliputi unsur hara makro, mikro, sumber karbon, vitamin, dan zat pengatur tumbuh. Komposisi auksin dan sitokinin memainkan peranan penting dalam induksi dan regenerasi kalus menjadi tunas (Sharma *et al.* 2016; Kumar & Reddy 2011). Setiap genotipe tanaman memiliki respons pertumbuhan yang berbeda meskipun ditumbuhkan pada media kultur yang sama, demikian juga dengan sumber eksplan tanaman sehingga diperlukan optimasi kondisi yang optimal untuk masing-masing genotipe dan sumber eksplan

(George *et al.* 2008). Hasil penelitian Sukmadjaja & Mulyana (2011) pada regenerasi tanaman tebu dapat disimpulkan bahwa regenerasi dan pertumbuhan tanaman secara *in vitro* dipengaruhi antara lain oleh jenis atau varietas dan komposisi media tumbuh yang digunakan.

### ***Tipe eksplan***

Bagian tanaman yang dapat digunakan sebagai bahan untuk perbanyak dalam kultur jaringan disebut dengan eksplan (Akin-Idowu *et al.* 2009). Bahan tanaman yang dapat digunakan sebagai eksplan antara lain jaringan muda yang belum mengalami diferensiasi dan masih aktif membelah atau bersifat *meristematik*, sehingga memiliki kemampuan regenerasi yang tinggi, jaringan dengan sifat tersebut ditemukan pada tunas apikal, tunas aksilar, bagian tepi daun, ujung akar atau kambium batang (Sharma *et al.* 2016). Pada tanaman jenis temu-temuan seperti jahe, kunyit putih, temu mangga, temu lawak dan kencur bagian rimpang dapat digunakan sebagai eksplan (Hutami 2014). Imelda *et al.* (2007) dan Imelda (2008) menggunakan eksplan tunas pucuk dan tangkai daun/petiole pada tanaman *iles-iles* dan *Caladium hibrida* (Irawati, 2005). Keuntungan menggunakan tangkai daun (petiole) sebagai eksplan ialah tidak merusak umbi, sehingga tidak mengganggu tanaman induk dan tersedia dalam jumlah banyak (Imelda *et al.* 2008). Ahmadpour *et al.* (2017) menggunakan eksplan embrio masak dan embrio muda pada tanaman gandum.

### ***Media kultur***

Media kultur yang dapat digunakan di dalam kultur jaringan harus memenuhi syarat sebagai berikut yaitu mengandung nutrisi hara makro dan mikro dalam kadar dan perbandingan

tertentu serta mengandung sumber energi, biasanya digunakan sukrosa. Vitamin yang digunakan berasal dari golongan thiamin, piridoksin, vitamin B6 dan myoinositol, selain itu diperlukan zat pengatur tumbuh sebagai senyawa untuk mengarahkan pertumbuhan tanaman (Bathia *et al.* 2015).

Media tanam yang dapat digunakan di dalam kultur jaringan ada tiga jenis yaitu media padat, semi padat dan media cair: (1) media padat secara umum berupa padatan gel, seperti agar, dimana kandungan nutrisi dicampurkan pada agar; (2) media cair, nutrisi untuk media dilarutkan menggunakan air tanpa menggunakan agar; dan (3) media semi padat. Komposisi media yang digunakan dalam kultur jaringan tergantung jenis eksplan dan tujuan kegiatannya (Kumar & Reddy 2011).

Pertumbuhan biakan dan laju pembentukan tunas dipengaruhi oleh kondisi fisik media, seperti pH dan kepadatan. Media padat memberi keuntungan antara lain bila menggunakan eksplan yang berukuran kecil maka akan mudah dapat dilihat dan tidak jatuh. Pemilihan media untuk kultur jaringan tergantung pada spesies tanaman, jaringan atau organ yang digunakan serta tujuan kegiatan (Bathia *et al.* 2015).

### ***Genotipe***

Genotipe eksplan yang digunakan merupakan salah satu faktor yang menentukan keberhasilan regenerasi eksplan (Kumar & Reddy 2010). Salah satu faktor penentu dari efektifitas aplikasi bidang bioteknologi tersebut adalah efisiensi sistem dan kemampuan regenerasi suatu tanaman (Chengalrayan *et al.* 2005).

## **TAHAPAN KEGIATAN DI DALAM KULTUR JARINGAN**

### *Tahap persiapan*

Ruangan yang perlu disiapkan antara lain ruang untuk membuat media, ruang tanam dan ruang kultur, alat-alat yang diperlukan adalah untuk pembuatan media dan untuk penanaman.

- Ruangan dan alat-alat yang akan digunakan harus disterilisasi terlebih dahulu. demikian pula bahan tanaman yang akan digunakan. Alat yang digunakan antara lain laminar flow untuk menanam, oven untuk sterilisasi alat tanam dan botol kultur. Autoclave untuk sterilisasi media, timbangan analitik untuk menimbang bahan kimia, pH meter untuk mengukur pH media kultur, serta rak kultur untuk meletakkan biakan.
- Bahan tanaman yang digunakan sebagai eksplan dapat berupa daun, tunas, cabang, batang, akar, embrio, kotiledon, embrio ataupun bagian-bagian tanaman lainnya.
- Bahan untuk sterilisasi eksplan, antara lain betadin, alkohol, NaOCl (biasanya untuk pemutih pakaian), CaOCl (kaporit), HgCl<sub>2</sub> (sublimat).
- Persiapan media tanaman. Media tanam yang harus dipersiapkan adalah yang sesuai dengan tahap perkembangan eksplan, misal induksi kalus, induksi tunas, atau induksi akar.
- Lingkungan kultur: oksigen, suhu dan cahaya adalah tiga faktor lingkungan yang turut mempengaruhi pertumbuhan biakan. Kebutuhan oksigen pada kultur, terutama pada embrio kadang-kadang lebih tinggi dari pada konsentrasi oksigen di atmosfer (George *et al.* 2008). Kondisi yang paling utama dalam suhu dan cahaya, suhu menentukan repon fisiologi kultur dan kecepatan pertumbuhan.
- Cahaya merupakan faktor penting bagi pertumbuhan dan perkembangan tanaman karena selain berperan dominan pada proses fotosintesis juga sebagai pengendali, pemicu dan

modulator respons morfogenesis khususnya pada tahap awal pertumbuhan tanaman (George *et al.* 2008).

### ***Tahap inisiasi kultur***

Botol-botol berisi eksplan disimpan di dalam ruangan kultur di mana suhu, kelembaban dan cahaya diatur sesuai kebutuhan pertumbuhan eksplan. Ruang kultur yang memenuhi syarat untuk pertumbuhan eksplan adalah dengan pencahayaan penuh menggunakan lampu TL dengan intensitas penyinaran minimal 1.500 lux, penyinaran diatur menggunakan timer yaitu selama 16 jam terang dan 8 jam gelap. Kelembapan ruangan dijaga berkisar antara 80–90% dengan temperatur 21-23°C.

### ***Tahap multiplikasi tunas***

Tunas yang telah diperoleh dipisahkan untuk mendapatkan tunas baru dengan cara memotong pangkal tunas atau bagian buku, atau memisahkan ujung tunas yang sudah ada yang telah menghasilkan ruas dan buku baru; tunas-tunas lateral; tunas adventif; serta embrio somatik.

### ***Tahap pemanjangan tunas, induksi akar, dan perkembangan akar***

Tunas-tunas yang telah dipisahkan akan membentuk tanaman yang lengkap, termasuk akar apabila dikulturkan pada media tanam yang sesuai, namun adakalanya akar tidak dapat terbentuk. Induksi akar merupakan proses memacu pertumbuhan akar yang biasanya dilakukan dengan penambahan zat pengatur tumbuh terutama dari golongan auksin.

## Aklimatisasi

Aklimatisasi merupakan tahap pemindahan plantlet dari kondisi terkontrol di dalam botol ke lingkungan luar. Kondisi luar yang tidak stabil sangat rentan bagi plantlet. Oleh karena itu, plantlet tidak langsung dipindahkan ke lapangan melainkan ke tempat-tempat persemaian atau di rumah kaca. Kondisi lingkungan terutama suhu dan kelembaban sedikit demi sedikit diubah hingga menyamai kondisi di lapangan. Hal ini perlu dilakukan agar plantlet dapat menyesuaikan dengan kondisi lingkungannya sampai nanti dipindahkan ke lingkungan tumbuhnya di lapang. Untuk mencegah penguapan yang terlalu tinggi sehingga menyebabkan tanaman menjadi mati maka, plantlet yang baru dikeluarkan dari botol disungkup menggunakan gelas plastik sampai terbentuk tanaman yang normal.

### Tipe kultur jaringan meliputi:

- *Kultur kalus*: yang dimaksud dengan kalus adalah sel yang belum terorganisasi dan membelah terus menerus, berasal dari isolasi bagian tanaman, ditumbuhkan pada media **Error! Bookmark not defined.** buatan dalam kondisi terkontrol dan steril (Sharma *et al.* 2016)
- *Kultur organ*: digunakan secara umum pada kultur jaringan, bagian tanaman yang dapat digunakan sebagai eksplan meliputi primordial daun, bakal bunga dan bakal buah (George *et al.* 2008).
- *Kultur sel*: metode menumbuhkan sel tunggal secara aseptik pada kondisi lingkungan terkontrol.
- *Kultur suspensi*: kultur sel atau agregat sel dalam media cair, untuk menghasilkan embrio somatik atau, produksi metabolit sekunder, mutagenesis *in vitro*, seleksi *in vitro* dan studi transformasi.

- *Kultur embrio*: didefinisikan sebagai isolasi embrio secara aseptik pada berbagai tahapan perkembangan embrio, dikembangkan dalam kondisi aseptik dan lingkungan terkontrol seperti media dan kelembapan ruangan.
- *Kultur antera androgenesis* adalah perkembangan sel haploid berasal dari polen pada tahap pembelahan tertentu.
- *Kultur protoplas*: kultur protoplas hasil isolasi sel, dalam kondisi aseptik dan lingkungan tumbuh optimum untuk pertumbuhan sel.
- *Kultur meristem*: menumbuhkan bagian apikal meristem yang berukuran sangat kecil terdiri dari bagian dome meristem dengan satu atau dua primordial daun untuk diinisiasi menjadi tunas, untuk menghasilkan tanaman bebas virus (George *et al.* 2008).

### ***Perbanyakkan secara organogenesis***

Genotipe yang mempunyai kemampuan beregenerasi melalui jalur organogenesis, maka kalus langsung membentuk tunas. Diferensiasi kalus menjadi tunas diawali dengan pembentukan pusat aktivitas meristematik (*meristemoid*) pada kalus yang mengarah pada pembentukan organ (Ali *et al.* 2008). Berlainan dengan jalur embriogenesis somatik, kalus yang terbentuk selanjutnya membentuk unit yang menyerupai embrio (*embryoid*) yang memiliki dua calon meristem dan selanjutnya akan melewati tahap pendewasaan dan perkecambahan (Purnamaningsih 2002). Regenerasi tanaman melalui jalur organogenesis ada dua macam yaitu organogenesis secara langsung dan tidak langsung.

### ***Organogenesis langsung***

Organogenesis merupakan proses pembentukan dan perkembangan tunas dari jaringan meristem. Pada organogenesis lang-

sung, tunas dapat terbentuk dari potongan organ seperti daun, tangkai bunga, tunas pucuk, batang dan akar (Kim *et al.* 2003).

Pada beberapa jenis tanaman, tunas adventif dapat terbentuk dari berbagai organ tanaman seperti daun, batang, akar atau petal, sementara jenis tanaman lainnya hanya dari organ tertentu seperti potongan umbi, embrio atau kecambah (Kim *et al.* 2003). Pada pembentukan tunas adventif terjadi efek sinergisme antara sitokinin dan auksin (Trigiano & Gray 2005; Kothari *et al.* 2010). Perbanyak tanaman melalui pembentukan tunas langsung dapat dilakukan melalui tahap inisiasi tunas dilanjutkan dengan multiplikasi tunas. Ke dua tahap ini dapat terjadi pada medium yang sama tanpa melalui pemindahan ke medium baru.

### ***Organogenesis tidak langsung***

Pembentukan tunas melalui jalur organogenesis tidak langsung diawali dengan tahap pembentukan kalus dan akan menghasilkan tanaman dengan genetik yang bervariasi (Ślesak *et al.* 2013) dan ini sangat dikehendaki oleh pemulia tanaman sebagai sumber keragaman genetik untuk perakitan varietas baru (Pati *et al.* 2006). Pada organogenesis melalui kalus, media MS banyak digunakan menggunakan eksplan tunas, biji, embrio muda, bakal bunga dll. (Rebilas & Rebilas 2006).

Penelitian Yunita & Lestari (2008), menghasilkan tunas dari kalus pulai pandak (*Rauwolfia serpentina*), kalus diinduksi dari eksplan daun dan batang menggunakan media MS+ 2,4 D 1 mg/l + Casein Hidrolizat 3 mg/l, untuk regenerasi tunas digunakan MS + BA 1 mg/l + zeatin 0,5 mg/l + maltosa 3%. Regenerasi tunas dari eksplan kalus merupakan proses yang kompleks, banyak faktor yang mempengaruhi antara lain genotipe tanaman, keseimbangan zat pengatur tumbuh sitokinin dan auksin serta kondisi fisiologi kalus (Gantait & Mandal 2010). Kalus yang belum mengalami periode kultur yang panjang mempunyai respons yang

lebih baik dibandingkan kalus yang telah disubkultur berkali-kali (Ogawa 2000).

Regenerasi melalui jalur organogenesis mempunyai keunggulan dibandingkan dengan embriogenesis, yaitu peluang terjadinya mutasi lebih kecil, metodenya lebih mudah dan tidak memerlukan subkultur berulang sehingga tidak menurunkan daya regenerasi dari kalus (Purnamaningsih 2006).

### ***Perbanyakkan secara embriogenesis***

Embriogenesis somatik merupakan suatu proses di mana sel somatik berkembang menjadi tanaman lengkap melalui tahap perkembangan embrio yang spesifik tanpa melalui fusi gamet (Iqbal *et al.* 2015; Guan *et al.* 2016; Ikeuchi *et al.* 2016). Pembentukan tanaman melalui embriosomatik merupakan tahapan yang penting pada transformasi genetik, fusi protoplas dan konservasi plasma nutfah (Ahmadpour *et al.* 2017; Ozudogru & Lambardi 2016). Pembentukannya melalui dua jalur yaitu secara langsung maupun tidak langsung (melewati fase kalus) (Yang & Zhang 2010).

Keberhasilan pembentukan tanaman melalui jalur embriogenesis somatik ditentukan oleh ciri kalus atau sel yang digunakan antara lain bersifat embriogenik yaitu sel berukuran kecil, sitoplasma padat, inti besar, vakuola kecil-kecil dan mengandung butir pati (Purnamaningsih, 2002). Beberapa faktor yang mempengaruhi pembentukan embrio somatik antara lain jenis eksplan, sumber nitrogen dan gula, serta jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang tepat (Purnamaningsih, 2002; Guan *et al.*, 2016; Ahmadpour *et al.*, 2017; Miroshnichenko *et al.*, 2016).

Kalus embrionik pada sedap malam diperoleh dengan menumbuhkan eksplan daun pada media dengan penambahan 2,4-D 2,5 mg/l (Roostika *et al.*, 2005). Konsentrasi zat pengatur tumbuh yang optimal untuk pembentukan kalus embrionik ter-

gantung pada eksplan yang digunakan. Pada tanaman pepaya menggunakan 2,4-D 10 mg/l menyebabkan pembentukan kalus menjadi terhambat, peningkatan pembentukan kalus embrionik diperoleh pada 2,4-D 20 mg/l (Hutami *et al.* 2001). Pembentukan embrio somatik tertinggi sebanyak 384,7 buah/bejana diperoleh dari kultur suspensi dengan penambahan 2,4-D 5,0 mg/l dikombinasikan dengan kinetin 0,1 mg/l (Riyadi *et al.* 2016). Pada embriogenesis tanaman pepaya kalus yang diregenerasikan dapat membentuk tunas dicirikan dengan adanya perubahan warna dari kecoklatan atau kuning menjadi putih kekuningan selanjutnya menjadi kehijauan (Damayanti *et al.* 2007). Embrio somatik pada cendana diperoleh dari eksplan embrio masak ditanam pada media MS + BA + Thidiazuron (Sukmadjaja 2005).

### ***Peran zat pengatur tumbuh***

Zat pengatur tumbuh adalah senyawa organik alami yang disintesa di dalam tanaman, mempunyai kemampuan mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Kumar & Reddy (2011). Zat pengatur tumbuh mempunyai peran penting untuk menentukan arah perkembangan sel dan jaringan di dalam media kultur (Hussain *et al.* 2012).

Kemampuan regenerasi tunas dapat ditingkatkan dengan penambahan zat pengatur tumbuh dari luar, untuk menciptakan keseimbangan antara auksin dan sitokinin di dalam jaringan sehingga kemampuan regenerasi tanaman meningkat (Ikeuchi *et al.* 2016b).

Zat pengatur tumbuh yang biasa digunakan dalam kultur jaringan terdiri dari beberapa golongan yaitu sitokinin, auksin, giberellin, etilene dan absisik acid (Kumar & Reddy 2011). Penggunaannya dapat secara tunggal atau dikombinasikan antara zat pengatur tumbuh dari golongan auksin dengan sitokinin tergantung tujuan dan bahan tanaman yang digunakan, konsentrasi

yang berbeda akan mengatur keseimbangan antara proliferasi dan diferensiasi (DelloIoio *et al.* 2008). Keseimbangan antara auksin dan sitokinin diperlukan untuk pembentukan tunas dan akar adventif (Kumar & Reddy 2011). Pemilihan zat pengatur tumbuh merupakan salah satu faktor yang sangat menentukan proses diferensiasi sel dan jaringan tanaman yang dikulturkan. Untuk meningkatkan keberhasilan regenerasi dan pembentukan tunas, zat pengatur tumbuh dari golongan sitokinin (BAP dan kinetin) sering digunakan untuk menstimulasi pembentukan tunas (Ali *et al.* 2008).

Auksin pada konsentrasi tinggi diperlukan untuk memacu perakaran, sedangkan sitokinin pada konsentrasi tinggi diperlukan untuk memacu induksi tunas. Keseimbangan antara sitokinin dan auksin di dalam jaringan akan menginduksi pembentukan kalus (Hussain *et al.* 2012). Kombinasi media dasar dan zat pengatur tumbuh yang tepat akan meningkatkan aktivitas pembelahan sel dalam proses morfogenesis dan organogenesis sehingga dapat diperoleh biakan dalam jumlah banyak (Lestari 2011).

Zat pengatur tumbuh auksin mempunyai peran ganda tergantung pada struktur kimia, konsentrasi dan jaringan tanaman yang diberi perlakuan (Satyavathi *et al.* 2004). Pada umumnya auksin digunakan untuk menginduksi pembentukan kalus, kultur suspensi dan akar, yaitu dengan memacu pemanjangan dan pembelahan sel di dalam jaringan kambium (Lestari 2011). IAA (Indol Acetic Acid) merupakan auksin alami yang mudah diperoleh sehingga sering digunakan. Auksin sintetik yang tidak mudah terurai dan mempunyai aktivitas sama, contohnya adalah 2,4-D (2,4-dichloro phenoxyacetic acide), 3-Indol Butyric Acid (IBA) dan 1-Naphtalene Acetic Acid (NAA).

Sitokinin pada umumnya berperan untuk memacu pembelahan dan menginduksi pembentukan tunas aksilar serta memacu proliferasi tunas (Hussain *et al.* 2012). Yang termasuk golongan sitokinin alami: kinetin, zeatin dan 2-ip (dimethyl Allil Amino

Purin), yang termasuk sitokinin buatan adalah 6-benzyl adenin (BA) sering disebut dengan istilah 6-benzil amino purin (BAP) dan thidiazuron (Lestari 2011). Kinetin atau N6-furfuril adenine merupakan suatu turunan dari basa adenin. Senyawa sintetik yang berstruktur serupa kinetin juga dapat mendorong pembelahan sel. Ahli-ahli fisiologi tumbuhan memberi nama sitokinin yang menggambarkan fungsinya dalam pembelahan sel (sitokinesis).

Penggunaan zat pengatur tumbuh di dalam kultur jaringan tergantung pada tujuan atau arah pertumbuhan tanaman yang diinginkan serta tergantung jenis tanaman yang digunakan (Lestari, 2011). Pemilihan zpt yang tepat akan menentukan keberhasilan regenerasi (Miroshnichenko *et al.* 2016). BAP merupakan sitokinin yang banyak digunakan untuk regenerasi tanaman dari golongan serealia (Ślesak *et al.* 2013). Keberhasilan regenerasi tanaman tergantung konsentrasi zpt yang ditambahkan, pada tanaman gandum penggunaan 1,5 mg/l BAP memberikan hasil terbaik yaitu 80% dan 67% pada kultivar AAS-11 dan Pac-13 (Seslak *et al.* 2013)

Penggunaan thidiazuron (TDZ) dapat pula meningkatkan kemampuan multiplikasi tunas di samping sitokinin BA atau kinetin (Lestari 2015). Thidiazuron merupakan senyawa organik yang banyak digunakan dalam perbanyakan *in vitro* karena aktivitasnya menyerupai sitokinin (Kumar & Reddy 2012). Adanya zat pengatur tumbuh endogen di dalam jaringan maupun zat pengatur tumbuh eksogen yang ada di dalam media kultur sangat menentukan keberhasilan regenerasi tunas baik melalui jalur organogenesis maupun embriogenesis (Kumari *et al.* 2018).

## KESIMPULAN

Teknik kultur jaringan tanaman sangat besar peranannya untuk mendukung perkembangan bioteknologi baik untuk tujuan komersial maupun untuk penelitian, pengadaan benih berkualitas secara masal telah dikembangkan pada berbagai komoditi antara lain tanaman hortikultura, tanaman pangan dan tanaman perkebunan, seperti tebu, pisang, kentang, tanaman hias dll.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahmadpour R, Zare N, Asghari-Zakarta R, Sheikhzadeh P. 2017. Efficient *in vitro* somatic embryogenesis and plant regeneration from mature and immature embryos of Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Braz Arch Biol Technol.* 59:1-12.
- Akin-Idowu PE, Ibitoye DO, Ademoyegun OT. 2009. Tissue culture as a plant production technique for horticultural crops. *Afr J Biotechnol.* 8:3782-3788.
- Ali A, Naz SFA, Siddiqui, Iqbal J. 2008. Rapid clonal multiplication of sugarcane (*Saccharum officinarum*) through callogenesis and organogenesis. *Pak J Bot.* 4:123-138.
- Arnold SV, Sabala I, Bozhkov P, Dyachok J, Filonova L. (2002). Developmental pathways of somatic embryogenesis. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 69:233-249.
- Behera KK, Sahoo S. 2009. Rapid *in vitro* micropropagation of sugarcane (*Saccharum officinarum* L. cv-Nayana) through callus culture. *Nat Sci.* 7:1-10.
- Bhatia S, Sharma K, Dahiya R, Bera T, Bhatia S. 2015. Plant Tissue Culture. In: *Modern Applications of Plant Biotechnology in*

- Pharmaceutical Sciences. (pp. 31-107). Burlington (USA): Elsevier Science.
- Chengalrayan K, Abouzid A, Gallo-Meagher M. 2005. *In vitro* regeneration of plant from sugarcane seed-derived callus. *In Vitro Cell. Dev Biol Plant.* 41:477-482.
- Damayanti D, Mariska I, Herman M. 2007. Regenerasi pepaya melalui kultur *in vitro*. *J AgroBiogen.* 3:49-54.
- Farid MB. 2003. Perbanyak tebu (*Saccharum officinarum* L.) secara *in vitro* pada berbagai konsentrasi IBA dan BAP. *J Sains Teknol.* 3:103-109.
- Gantait S, Mandal N. 2010. Tissue culture of *Anthurium andreaeanum*: A significant review and future prospective. *Int J Botany.* 6:207-219.
- Gantait S, Mandal N, Das PK. 2010. An overview *in vitro* culture of genus *Allium*. *Am J Plant Phyiol.* 5:325-337.
- Gaspar T, Kevers C, Penel C, Greppin H, Reid DM, Thorpe TA. 1996. Plant hormones and plant growth regulators in plant tissue culture. *In Vitro Cell Dev Biol.* 32:272-289.
- Giri CC, Shyamkumar B, Anjaneyulu C. 2004. Progress in tissue culture, genetic transformation and applications of biotechnology to trees: an overview. *Trees.* 18:115-135.
- Guan Y, Li SG, Fan XF, Su ZH. 2016. Application of somatic embryogenesis in woody plants. *Front Plant Sci.* 7:938.
- Hutami S, Mariska I, Purnamaningsih. R, Herman M, Damayanti D, Utami S. 2001. Regeneration of papaya (*Carica papaya* L.) through somatic embryogenesis. In: Proceedings of the 2nd Indonesian Biotechnology Conference. Indonesian Biotechnology Consortium.

- Hutami S, Purnamaningsih R. 2003 Perbanyakkan Klonal Temu Mangga (*Curcuma mangga*) melalui Kultur *In Vitro*. Bul Plasma Nutfah. 9:39-44.
- Hutami S. 2014. Mikropropagasi dan preservasi tanaman obat melalui kultur *in vitro*. J Penelit Pengemb Pertan. 33:1-10.
- Hussain BA, Qarshi IA, Nazir H, Ullah I. 2012. Plant Tissue Culture: Current Status and Opportunities. 28 pp. INTECH Boog open Acces.
- Ikeuchi M, Iwase AB, Rymen H, Harashima M, Shibata, Ohnuma M, Breuer C, Morao AK, De Lucas M, De Veylder, Goodrich J, Siobhan M, Brady RF, Sugimoto K. 2016. PRC2 represses dedifferentiation of mature somatic cells in Arabidopsis. Nat Plants. 1:1-7.
- Imelda M, Wulansari A, Poerba YS. 2007. Mikropropagasi tanaman Iles-Iles (*Amorphophallus muelleri* Blume). Ber Biol. 8:271-278.
- Imelda M. 2008. Shoot regeneration from leaf petioles of iles-iles (*Amorphophallus muelleri* Blume). Biodiversitas. J Biol Divers. 9:173-176.
- Iqbal M, Raja NI, Asif S, Ilyas N, Hussain M, Yasmeen F, Javed H. 2016. *In vitro* study of callogenesis and regeneration potential of elite wheat (*Triticum aestivum* L.) Cultivars. Am J Plant Sci. 7:2515-2526.
- Irawati. 2005. Pembentukan kalus dan embriogenesis kultur pelepah daun dan daun caladium hibrida. Ber Biol. 7:257-261.
- Isnaini Y. 2015. Kultur Jaringan Kantong Semar (*Nepenthes* Spp.) di Kebun Raya LIPI dan Pemanfaatannya oleh Masyarakat. Warta Keb Raya. 13:9-16.

- Jalaja NC, Neelamathi D, Sreenivasan TV. 2008. Micropropagation for quality seed production in sugarcane in Asia and the Pacific. FAO, APCoAB and APAARI. p. i-x + 46.
- Kim EK, Hahn EJ, Murthy HN, Pack KY. 2003. High frequency of shoot multiplication and bulbet formation of garlic in liquid cultures. *Plant Cell Tiss Org Cult.* 73:231-236.
- Kothari SL, Joshi A, Kachhwaha S, Ochoa-Alejo N. 2010. Chilli peppers-A review on tissue culture and transgenesis. *Biotechnol Adv.* 28:35-48.
- Kumar N, Reddy MP. 2010. Plant regeneration through the direct induction of shoot buds from petiole explants of *Jatropha curcas*: a biofuel plant. *Ann Appl Biol.* 156:367-375.
- Kumar N, Reddy MP. 2011. *In vitro* plant propagation: A Review *in vitro* plant propagation: A Review. *J Forest Sci.* 2:61-72.
- Kumar N, Reddy MP. 2012. Thidiazuron (TDZ) induced plant regeneration from cotyledonary petiole explants of elite genotypes of *Jatropha curcas*: A candidate biodiesel plant. *Ind Crops Prod.* 39:62-68.
- Kumari A, Baskaran P, Plačková L, Němčáková, Nisler J, Doležal K, Van Staden J. 2018. Plant H growth regulator interactions in physiological processes for controlling plant regeneration and *in vitro* development of *Tulbaghia simmleri*. *J Plant Physiol.* 223:65-71.
- Lestari EG. 2008. *Kultur Jaringan*. Bogor (Indonesia): Akademia. 58 hlm.
- Lestari EG. 2011. Peranan Zat Pengatur Tumbuh dalam Perbanyakkan Tanaman melalui Kultur Jaringan. *Agrobiogen*, 7:63-68.

- Lestari EG. 2015. Peran Thidiazuron dalam peningkatan kemampuan proliferasi tanaman secara *in vitro*. *Penelit Pengemb Pertan.* 34:87-93.
- Miroshnichenko D, Chernobrovkina M, Dolgov S. 2016. Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature embryos of *Triticum timopheevii* Zhuk. and *Triticum kiharae* Dorof. et Migusch, wheat species with G genome. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 125:495-508.
- Miroshnichenko DN, MW.Filippov, Dolgov SV. 2013. Medium optimization for efficient somatic embryogenesis and *in vitro* plant regeneration of spring common wheat varieties. *Russian Agric Sci.* 39:24-28.
- Ogawa T. 2000. Improvement of cell culture condition for rice. *JARC.* 34:215-223.
- Ozudogru EA, Lambardi M. 2016. Cryotechniques for the Long-Term Conservation of Embryogenic Cultures from Woody Plants. In: *In Vitro Embryogenesis in Higher Plants.* p. 537-550.
- Pati PK, Rath SP, Sharma M, Sood A, Ahuja PS. 2006. *In vitro* propagation of rose-A review. *Biotechnol. Adv* 24:94-114.
- Pardal SJ, Utami TIR, Herman M. 2001. Organogenesis dan embriogenesis somatik kedelai secara *in vitro*. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Pertanian,* hlm. 28-36.
- Purnamaningsih R. 2002. Regenerasi tanaman melalui embriogenesis somatik dan beberapa gen yang mengendalikannya. *Bul AgroBio.* 5:51-58.
- Purnamaningsih. R. 2006. Induksi Kalus dan Optimasi Regenerasi Empat Varietas Padi melalui Kultur *In Vitro*. *J AgroBiogen.* 2:74-80.

- Rębilas K, Rębilas A. 2008. Auxin concentrations control the average DNA content in cells of *in vitro* cultures: a theoretical model and comparison to experimental data for *Allium cepa* and *Allium sativum*. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 95:89-99.
- Riyadi I, Efendi D, Purwoko BS, D Santoso. 2016. Embriogenesis Somatik Tidak Langsung pada Tanaman Sagu (*Metroxylon sagu* Rottb.) Menggunakan Sistem Kultur Suspensi, Perendaman Sesaat, dan Media Padat. *Jurnal AgroBiogen.* 12:37-44.
- Roostika I, Mariska I, R Purnamaningsih. 2005. Regenerasi tanaman sedap malam melalui organogenesis dan embriogenesis somatik. *J Hort.* 15:233-241.
- Satyavathi VV, Jauhar PP, Elias EM, MB. Rao. 2004. Effects of growth regulators on *in vitro* plant regeneration in durum wheat. *Crop Science.* 44:1839-1846.
- Sharma GK, Jagetiya S, Dashora R. 2016. In: Lulu, edotors. *General Techniques of Plant Tissue Culture.* 30 p. Lulu Press Inc Raleigh, North Carolina, United States.
- Siddique, I., Bukhari, N. A. W., Perveen, K., & Siddiqui, I. (2015). Influence of plant growth regulators on *in vitro* shoot multiplication and plantlet formation in *Cassia angustifolia* Vahl. *Braz Arch Biol Technol.* 58:686-691.
- Ślesak H, Góralski G, Pawłowska H, Skucińska B, Popielarska-Konieczna M, Joachimiak. A. (2013). The effect of genotype on a barley scutella culture. Histological aspects. *Open Life Sci.* 8:30-37.
- Sukmadjaja D. 2005. Embriogenesis somatik langsung pada tanaman cendana. *J Bioteknol Pertan.* 10:1-6.

- Sukmadjaja D, Mulyana A. 2011. Regenerasi dan Pertumbuhan Beberapa Varietas Tebu (*Saccharum officinarum* L.) secara *In Vitro*. *J AgroBiogen*. 7:106-118.
- Thorpe TA. 2006. History of Plant Tissue Culture. In: *Plant Cell Culture Protocols* (pp. 9–32). <https://doi.org/10.1385/1592599591>.
- Trigiano RN, Gray DJ. 2005. *Plant Development and Biotechnology*. London (UK): CRC Press. 376 p.
- Yang X, Xhang Z. 2010. Regulation of somatic embryogenesis in higher plants. *Plant Sci*. 29:36-57.
- Yunita R, Lestari EG. 2008. Induksi kalus dan regenerasi tunas pulai pandak (*Rauwolfia serpentina* L.). *Berita Biol*. 9:91-98.