

Perbanyakan *Amorphophallus titanum* Becc (Araceae) dengan Teknologi In Vitro

Witjaksono¹, Katarina Utami Nugraheni¹, Djadja SH Hoesen^(1,ALM) & Irawati²

¹Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Cibinong Science Center. Jl Raya Bogor Km 46, Cibinong, Bogor 16911. Email: tjak_witjaksono@yahoo.com

²Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Bogor, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia Jl Ir. H Juanda 4, Bogor 16003.

ABSTRACT

Propagation of *Amorphophallus titanum* Becc (Araceae) via In Vitro Technology. *Amorphophallus titanum* is a unique plant with gigantic inflorescence and radiating corpse-like odor and therefore has become a botanical flagship and attract visitors. Its existence in nature may be endangered due to habitat conversion that reduce population size required for cross pollination to occur. Propagation via non-conventional technique is much needed for the resulting planting material to be exchanged among botanical garden or even traders. Mass propagation using in vitro technology has been successful. An improvement of the propagation method has been developed by incorporating high level of cytokinin BA of 1-2 mg/l in the medium for shoot proliferation and lowering it to 0-0,1 mg/l for shoot elongation. Shoot elongation is effectively influenced by age and the phase of medium whereas the liquid phase induced the enlargement of the shoots significantly without even promoting any hyperhidricity. The plantlets produced survive acclimatization.

Key words: *Amorphophallus titanum*, mass propagation, in vitro, medium cair, BA.

PENDAHULUAN

A. titanum adalah salah satu jenis tanaman yang unik karena ukuran bunganya yang besar (diameter 1,5 m, tinggi 3,2 m) dan bau bunga seperti bangkai. Tanaman ini menjadi obyek “pameran” yang menarik minat masyarakat dan pelajar di seluruh dunia. Setiap kali berbunga, tanaman ini banyak dikunjungi oleh pengunjung Kebun Raya Bogor. Berbunganya tanaman ini di Kebun Botani Fairchild, Miami, Amerika Serikat dikunjungi lebih dari 5000 orang

dan mendapat pemberitaan di jurnal ilmiah ternama Science edisi 10 Juli 1998 (Anonim 1998). Keunikan tanaman ini membuat banyak orang atau lembaga di seluruh dunia mengkoleksi. Perdagangan tanaman ini sebagai tanaman koleksi atau tanaman hias dapat diketahui dari iklan-iklan di dunia maya (internet). Tunas bunga tanaman ini dipakai sebagai simbol Kebun Raya Indonesia dan Kebun Raya Bonn serta dipakai dalam mata uang kertas Indonesia berdenominasi Rp 500,-

Reproduksi seksual tanaman ini di alam memerlukan penyerbukan silang

karena perbedaan waktu kematangan alat reproduksi jantan dan betina. Seiring dengan semakin terbatasnya populasinya di alam, maka penyerbukan silang secara teoritis makin sukar, tetapi tanaman ini dapat diserbuk buatan di beberapa kebun raya di Jerman dan menghasilkan banyak biji yang dapat dikecambahkan dan tumbuh menjadi tanaman dewasa (Lobin *et al.* 2007). Pemiakan vegetatif melalui pembelahan umbi dapat dilakukan tetapi resiko kematian tinggi. Potongan daun dapat menghasilkan tanaman dengan frekuensi rendah dan pertumbuhan yang lambat (Lobin *et al.* 2007).

Karena itu perlu dikembangkan teknik pembiakan secara non konvensional untuk konservasi, pertukaran material tanaman maupun perdagangan tanaman ini. Pemiakan tanaman ini secara kultur jaringan telah berhasil dilakukan pada tahun 1988 oleh Kohlenbach (1988). Koleksi tanaman *A. titanum* di Kebun Raya Bonn juga berasal dari penelitian ini (Lobin *et al.* 2007). Irawati (2011) berhasil mendapatkan planlet dari eksplan tunas samping asal umbi *A. titanum* yang diambil dari tanaman yang dikoleksi dari lapang di Sumatra Barat. Jenis tanaman genus *Amorphallus* lain yang telah diteliti teknik regenerasinya meliputi *A. campanulatus* (Irawati *et al.* 1986) *A. muellerii* (Imelda *et al.* 2007;2008), *A. rivieri* (Hu *et al.* 2005), *A. konjac* (Ban *et al.* 2009).

Paper ini menjelaskan teknik perbanyak *A. titanum* dengan teknik kultur jaringan yang melibatkan pembentukan mata tunas secara adventif di medium padat dan perbesaran tunas di medium cair.

BAHAN DAN METODA

Kecuali disebut lain, komposisi medium dasar, cara pembuatan medium, lingkungan tumbuh biak dan pengamatan adalah sebagai berikut. Medium dasar yaitu komposisi medium sebelum ditambah perlakuan adalah medium MS dengan hara dan vitamin formulasi Murashige dan Skoog (1962) yang dipadatkan dengan 3 g/l Gelrite. Keasaman medium diatur pada pH 5.7-5.8 dengan 0.1 N KOH atau HCl. Sebanyak 25 ml medium di masukkan ke dalam botol selai berukuran 60 x 70 mm atau tabung reaksi 20 x 25 mm. Botol atau tabung reaksi ditutup 2 lapis plastik transparan dan diikat dengan karet gelang. Medium diotoklaf selama 20 menit pada suhu 121°C pada tekanan 15 psi. Medium diinapkan setidaknya semalam sebelum dipakai.

Kalus kompak diperoleh dari eksplan urat daun yang ditumbuhkan pada medium MS (Murashige & Skoog, 1962) dengan 0,03 mg/l Zeatin dan mg/l 0,3 mg/l NAA (Irawati 2011). Kalus kompak diinduksi untuk membentuk biak tunas pada medium MS dengan 0,1 mg/l BA. Tunas yang berukuran setidaknya 1 cm dipakai sebagai inokulum dengan membuang pucuknya sehingga diperoleh potongan tunas berukuran 1 cm dengan 2-3 mata tunas. Pada medium dengan BA tinggi inokulum potongan tunas membentuk mata tunas dalam jumlah yang sangat banyak. Mata tunas-mata tunas ini yang tumbuh pada bonggol yang menggebung di potong-potong berukuran 2-3 mm² dan disebut kluster

mata tunas dipakai sebagai inokulum untuk percobaan-percobaan selanjutnya.

Biak dipelihara pada rak kultur dengan dengan penyinaran 1000 lux, 16 jam per hari, suhu 28 °C. Selama pemeliharaan biak, karet gelang yang putus diganti dengan karet gelang baru. Biak diamati setelah 6-8 minggu setelah penanaman dan meliputi peubah jumlah tunas, panjang tunas, jumlah akar dan panjang akar. Data dianalisa secara statistik dengan nilai rata-rata dan standar error dan disajikan dalam tabel atau grafik.

Tunas *in vitro* *A. titanum* yang telah tumbuh memanjang dan mencapai 2-3 cm tetapi belum membentuk daun dipakai sebagai sumber inokulum. Inokulum berupa potongan tunas berukuran 1 cm, tanpa meristem apikal. Tiap potongan tunas membawa 1-2 mata tunas samping dan sebanyak 2 potongan ditanam pada medium perlakuan. Tiap perlakuan terdiri dari 10 ulangan. Perlakuan percobaan adalah konsentrasi BA yaitu 0, 0,1, 1, dan 2 mg/l.

Kluster tunas yang tumbuh pada ujung basal tunas pada perlakuan BA 0.1 mg/l dari percobaan di atas dipotong-potong sehingga berukuran 1 cm² dan berisi 3 mata tunas. Inokulum potongan kluster tunas ditanam pada medium perlakuan. Perlakuan percobaan adalah kombinasi sitokinin BA (0 dan 0,1 mg/l, dan auksin NAA (0, 0,1 dan 0,5 mg/l). Setiap perlakuan di ulang 10 kali.

Inokulum *cluster* mata tunas berukuran 1 x 1 cm dengan 3 mata tunas ditanam pada medium tumbuh MS yang diperkaya dengan air kelapa pada berbagai konsentrasi (0, 10 dan 20%).

Air kelapa dicampurkan dalam medium sebelum diotoklaf.

Inokulum tunas *in vitro* yang panjangnya 1 cm ditanam pada medium perlakuan yang terdiri dari medium dengan formulasi MS dan 0,1 mg/l BA ditambah GA₃ sesuai konsentrasi perlakuan (0,3, 1 dan 3 mg/l). GA₃ dilarutkan dalam 97% alcohol, dicampur air steril hangat dan dicampurkan pada medium dalam kabinet laminar setelah medium diotoklaf. Biak diamati setelah 1,5 dan 3,5 bulan. Tiap perlakuan terdiri dari 10 ulangan dan tiap ulangan terdiri dari 5 inokulum dalam botol selai.

Inokulum cluster mata tunas berukuran 1 x 1 cm dengan 3 mata tunas ditumbuhkan pada medium MS+0,1 mg/l BA dalam tabung reaksi 20 x 200 mm yang ditutup plastik bahan. Biak di simpan selama 8 minggu dengan penyinaran 1 lampu (600 lux), kemudian disubkultur pada medium yang sama dan disimpan pada dua kondisi penyinaran: terang (rak kultur dengan penyinaran 1 lampu) dan gelap (di simpan dalam kotak plastik yang bercat hitam). Tiap perlakuan terdiri dari 10 ulangan. Pertumbuhan biak diamati 6 minggu kemudian.

Inokulum berupa cluster mata tunas berukuran 1 cm x 1 cm dengan mata tunas yang berukuran kurang dari 2 mm dipindahkan pada medium cair. Sebanyak 25 ml medium dengan komposisi hara MS, vitamin dan 0.1 mg/l BA dimasukkan dalam Erlenmeyer 100 ml dan ditutup Aluminium foil dan dirangkap dengan plastik bahan dan diamankan dengan karet gelang. Biak dalam medium cair dipelihara dengan shaker yang

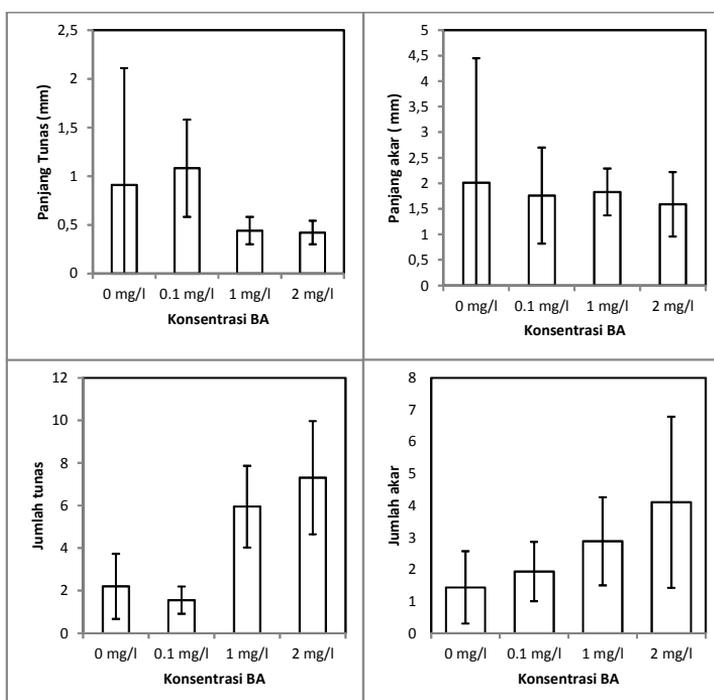
beroperasi pada 120 rpm selama 24 jam tanpa pencahayaan khusus tetapi dengan cahaya difuse dari penerangan ruangan. Sebagai kontrol, inokulum dengan ukuran yang sama dipindahkan pada medium padat (8 g/l agar) dengan komposisi yang sama dengan medium cair. Pertumbuhan biak diamati setelah 5 minggu. Sampel biak sebanyak 6 ulangan diamati untuk analisis data pertumbuhan.

HASIL

Pengaruh konsentrasi BA pada proliferasi tunas

Peningkatan konsentrasi BA pada medium secara nyata meningkatkan jumlah mata tunas yang terbentuk. Sampai konsentrasi BA yang tertinggi

yang diuji, jumlah mata tunas masih cenderung meningkat. Perbedaan jumlah mata tunas secara nyata terjadi antara konsentrasi 0.1 dan 1 mg/l (Gambar 1) dengan rata-rata jumlah mata tunas 2 dan 6, secara berturut-turut. Peningkatan BA pada medium secara nyata menurunkan panjang mata tunas yang terbentuk. Tunas yang terbentuk berukuran kecil dan karena itu disebut sebagai mata tunas. Secara morfologi mata tunas teramati dari struktur seperti seludang dengan formasi yang berhadap-hadapan. Peningkatan konsentrasi BA pada medium tidak berpengaruh nyata terhadap pembentukan akar, baik pada peubah jumlah akar maupun panjang akar.



Gambar 1. Pengaruh konsentrasi BA pada medium terhadap pertumbuhan biak *A. titanium*

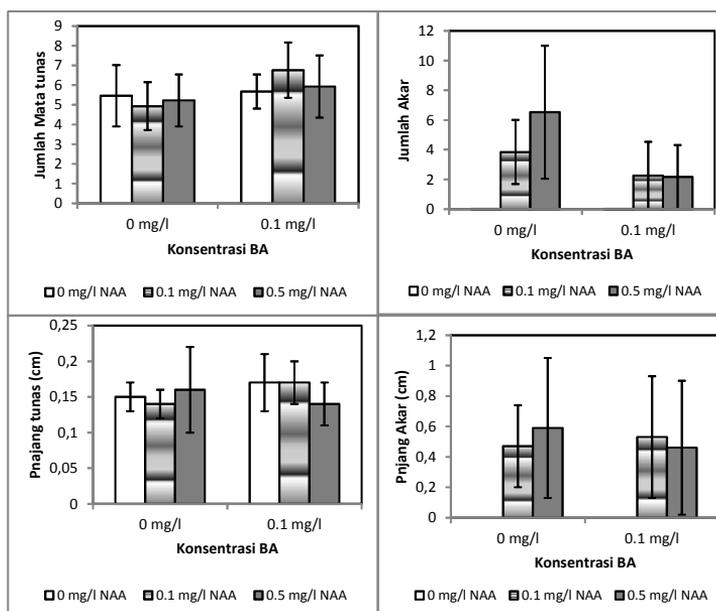
Pengaruh kombinasi BA dan NAA terhadap pertumbuhan tunas dan akar biak *A. titanium*.

Perlakuan kombinasi BA dan NAA pada konsentrasi yang diuji (0-0.1 mg/l BA dan 0-0,5 mg/l NAA tidak berpengaruh nyata pada peubah pertumbuhan biak *A. titanium*. Jumlah mata tunas yang terbentuk dan panjang mata tunas tidak berbeda nyata antara taraf konsentrasi. Perbedaan rata-rata jumlah akar cenderung dipengaruhi oleh konsentrasi NAA dalam medium. Pada

konsentrasi BA 0 mg/l jumlah dan panjang akar cenderung meningkat dengan meningkatnya konsentrasi NAA dari 0,1 ke 0,5 mg/l, namun peningkatan tidak terjadi pada peubah panjang akar.

Pengaruh air kelapa terhadap pertumbuhan tunas biak *A. titanium*

Penambahan air kelapa pada medium yang telah berisi 0,2 mg/l BA tidak berpengaruh nyata pada jumlah maupun panjang tunas *A. titanium* (Tabel 1).



Gambar 2. Pengaruh kombinasi BA dan NAA terhadap pertumbuhan tunas dan akar biak *A. titanium*.

Tabel 1. Pengaruh pemberian air kelapa dalam medium terhadap pertumbuhan biak mata tunas *A. titanium* setelah 6 minggu

Air kelapa (%)	Jumlah tunas	Panjang Tunas (cm)
0	4.5 ± 1.4	0.14 ± 0.03
10	3.4 ± 1.4	0.12 ± 0.04
20	4.2 ± 1.8	0.12 ± 0.05

Pengaruh GA₃ terhadap pertumbuhan biak.

Penambahan GA₃ pada medium biak yang berisi 0,1 mg/l BA tidak menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap jumlah maupun panjang tunas pada umur 6 minggu setelah tanam (Tabel 2). Pada umur 6 minggu, rata-rata jumlah tunas antar perlakuan GA₃ berkisar antara 3-5 dengan panjang tunas antara 0,8 – 1,2 cm. Pada pengamatan umur 14 minggu jumlah tunas meningkat menjadi antara 7-15 tunas. Jumlah tunas antara 3 tingkat konsentrasi GA₃ menunjukkan penurunan jumlah tunas secara nyata pada konsentrasi GA₃ 3 mg/l. Namun pengaruh GA₃ terhadap perpanjangan tunas sampai umur 14 minggu tidak berbeda nyata. Bahkan terlihat bahwa nilai rata-rata panjang tunas menurun

dibandingkan pengamatan umur 6 minggu. Penurunan nilai rata-rata panjang tunas disebabkan karena bertambah banyaknya tunas selama pertumbuhan. Jumlah tunas yang berukuran panjang lebih dari 0,5 cm mencapai 22-25% pada umur 14 minggu dan tidak berbeda nyata antar perlakuan.

Pengaruh cahaya terhadap pemanjangan tunas

Pemindahan biak tunas yang terdiri dari mata tunas berukuran kecil pada berbagai intensitas penyinaran tidak menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap pertumbuhan tunas (Tabel 3). Mata tunas yang berasal dari biak yang dipelihara pada intensitas cahaya terang dan dimasukkan pada kondisi gelap tidak bertambah panjangnya dibanding yang

Tabel 2. Pengaruh konsentrasi GA₃ terhadap pertumbuhan biak mata tunas *A. titanum* 6 dan 14 minggu setelah tanam.

GA ₃ (mg/l)	6 minggu setelah tanam		14 minggu setelah tanam		
	Jml tunas	panjang tunas (cm)	Jml tunas	panjang tunas (cm)	tunas >0,5 cm (%)
0.3	4.9 ± 3,1	0.8 ± 0,5	11.4 ± 5.7	0,45 ± 0,16	24,2
1	4.7 ± 1,9	0.5 ± 0,2	15.3 ± 7.2	0,35 ± 0,15	24,7
3	3.0 ± 1,3	1.2 ± 1,0	7.6 ± 1.1	0.50 ± 0.17	22.6

Tabel 3. Pengaruh perlakuan penyinaran terhadap pertumbuhan biak mata tunas *A titanum* setelah 6 minggu

Perlakuan penyinaran	Jumlah tunas	Panjang tunas (cm)	Warna Tunas (%)		
			hijau	hijau keputihan	putih
terang-gelap	17.1±6.7	0.21±0.04	13.4	18.6	62.9
redup-gelap	16.5±4.7	0.21±0.05	12.3	18.8	67.9
terang-terang sekali	9.2±4.3	0.35±0.20	84.4	25.2	0.0

terus menerus di pelihara pada intensitas cahaya yang lebih tinggi. Demikian pula biak yang semula pada kondisi redup kemudian dipindah ke kondisi gelap, pertumbuhan tunasnya tidak berbeda dengan perlakuan lainnya. Perbedaan intensitas cahaya tersebut berpengaruh pada warna tunas/mata tunas yang tumbuh. Warna tunas dominan hijau pada intensitas cahaya tinggi dan dominan putih pada intensitas cahaya rendah/gelap.

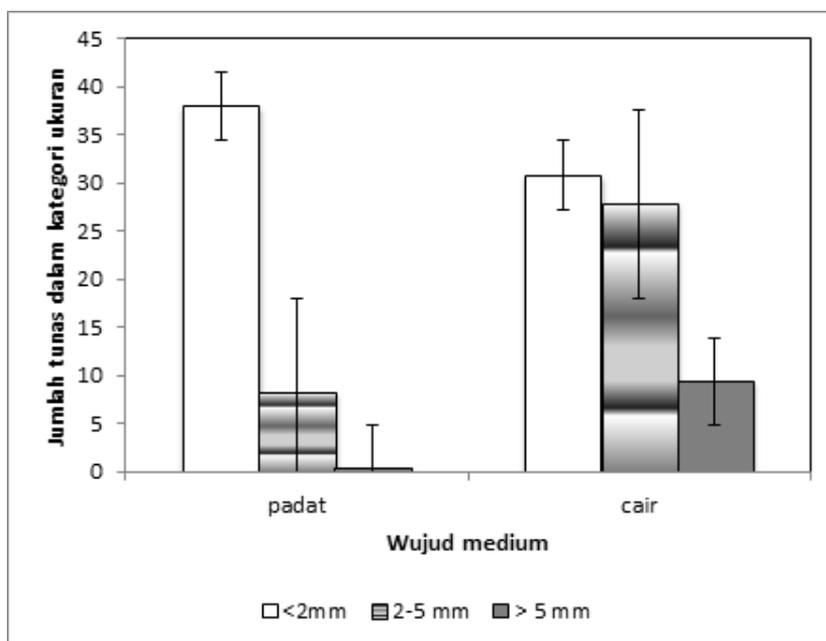
Pengaruh wujud medium tumbuh terhadap pertumbuhan tunas biak *A. titanum*

Perbedaan wujud medium, yaitu medium cair atau medium padat formulasi MS dengan penambahan 0.1 mg/l BA

berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan tunas *A. titanum*. Pada medium cair, tunas tumbuh lebih cepat dan dapat dikelompokkan menjadi tunas yang berukuran kurang dari 2 mm, 2-5 mm dan lebih besar dari 5 mm. Jumlah tunas yang berukuran kurang dari 2 mm tidak berbeda nyata antara kedua wujud medium, tetapi jumlah tunas 2-5 dan lebih dari 5 mm jauh lebih banyak pada medium cair (Gambar 1F). Tunas yang berukuran >5mm bahkan tidak didapat pada medium padat (Gambar 4).

Pola Regenerasi Tanaman *A. titanum* melalui teknologi in vitro

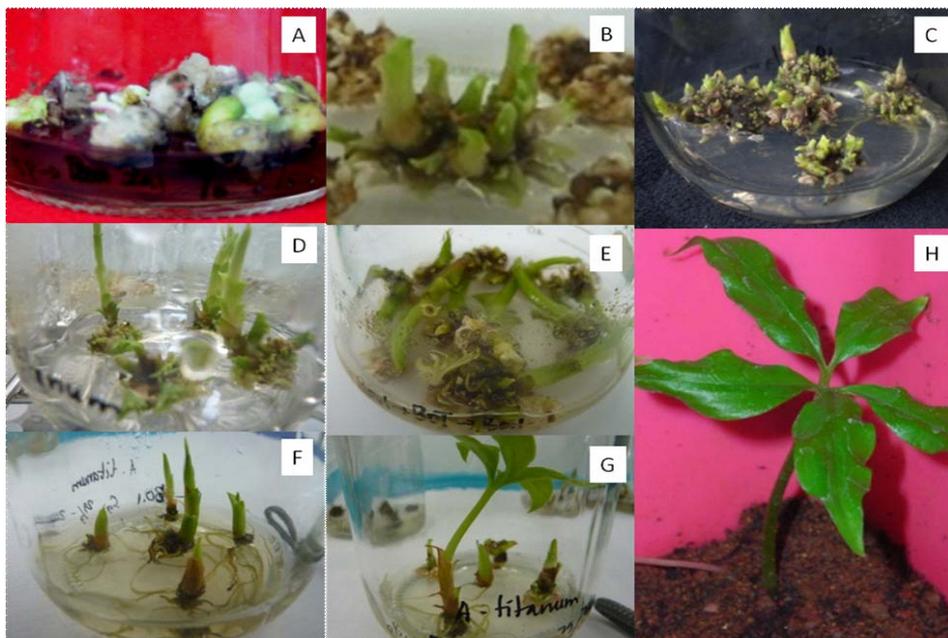
Dari percobaan-percobaan di atas, pola regenerasi tanaman untuk tujuan perbanyakan tanaman *A. titanum* dapat



Gambar 3. Pengaruh wujud medium terhadap pertumbuhan biak mata tunas *A. titanum* 6 minggu setelah tanam pada 25 ml medium.

disenaraikan sebagai berikut. Kalus kompak (Gambar 4A) terbentuk dari inokulum urat daun pada medium MS dengan penambahan 0.3 Zeatin dan 0.03 NAA (Irawati 2011) diinduksi membentuk tunas majemuk (biak tunas) pada medium MS dengan 0,1 mg/l BA (Gambar 4B). Potongan tunas dari biak tunas kemudian diinduksi membentuk tunas majemuk (Gamabr 4C) pada medium dengan BA tinggi (1-2 mg/l). Penurunan BA medium ke 0-0,1 mg/l dari inokulum potongan tunas majemuk

(cluster mata tunas) hanya menyebabkan sebagian kecil tunas memanjang (Gambar 4D). Untuk mendorong pemanjangan/pembesaran tunas dari mata tunas dari cluster mata tunas, cluster mata tunas ditumbuhkan dalam medium cair MS dengan BA 0-0,1 mg/l (Gambar 4E). Selanjutnya individu tunas dipisahkan dan ditanam dalam medium MS tanpa zpt untuk menginduksi perakaran (Gambar 4F). Setelah terbentuk daun yang membuka, maka plantlet (Gambar 4F) siap untuk aklimatisasi di medium



Gambar 4. Pola pertumbuhan tunas *Amorphophallus titanum* dalam biak in vitro. A) inokulum berupa jaringan kalus kompak yang tumbuh dari eksplan urat daun. B) Biak tunas yang berasal dari kalus kompak C) cluster mata tunas yang terbentuk dari potongan tunas pada medium yang berisi sitokinin BA 2 mg/l. D) beberapa individu tunas yang mengalami pembesaran pada medium dengan 0,1 mg/l BA dari cluster mata tunas. E) tunas-tunas dalam jumlah banyak yang membesar dari cluster mata tunas pada medium cair. F) individu tunas pada tahap pengakaran sebelum daun membuka. G) Planlet yang berupa individu tunas dengan daun yang telah mebuca dan tumbuh akar siap untuk aklimatisasi. H) Planlet survive di greenhouse selama aklimatisasi.

campuran tanah dan kompos (Gambar 4G).

PEMBAHASAN

Perbanyakan mikro atau in vitro tanaman *A. titanum* telah dilaporkan oleh Kohlenbach (1988) dan Irawati (2011). Hasil perbanyakan dari Kohlenbach telah diperbanyak secara turun temurun sampai sekarang di Kebun Raya Bonn (Lobin *et al.* 2007), sementara itu Irawati telah berhasil menginisiasi tunas dan meregenerasi tanaman sampai tingkat bibit di polibag dari eksplan yang berasal dari tanaman di lapang. Namun demikian banyak faktor yang berpengaruh terhadap perbanyakan biak *A. titanum* belum terungkap dan karena itu teknik perbanyakan in vitro tanaman ini masih perlu diperbaiki.

Pada penelitian ini pelipat-gandaan tunas *A. titanum* dengan mudah dapat dimanipulasi dengan peningkatan konsentrasi BA pada medium. Konsentrasi BA 1-2 mg/l secara nyata meningkatkan jumlah tunas dibanding konsentrasi rendah 0-0,1 mg/l. Namun demikian tunas yang terbentuk berukuran kecil. Penurunan konsentrasi BA pada level 0-0,1 mg/l menghasilkan tunas yang berukuran besar dalam jumlah yang sedikit (0-1 tunas per cluster). Usaha untuk mendorong pertumbuhan/pembesaran tunas dengan memasukkan NAA dalam medium tumbuh sebagai penyeimbang BA tidak berhasil. NAA berpengaruh pada pertumbuhan akar dari biak tunas pada medium tanpa BA. Pada *A. muellerii*, organogenesis tunas dari tangkai daun diperoleh pada media

dengan BA 1-4 mg/l dan konsentrasi optimum 2 mg/l, sedangkan penambahan NAA pada medium perlakuan hanya menurunkan jumlah tunas yang terbentuk (Imelda *et al.* 2008).

Penambahan air kelapa juga tidak berpengaruh pada penambahan ukuran tunas. Penambahan GA₃ tidak berpengaruh pada pertumbuhan biak sampai umur 6 minggu, tetapi pada umur 14 minggu, GA₃ konsentrasi tinggi (3 mg/l) menghambat proliferasi mata tunas dan menyeragamkan pengaruh BA dalam pelipatgandaan mata tunas. Pada umur 14 minggu lebih dari 20% mata tunas tumbuh mencapai ukuran lebih dari 0,5 cm menunjukkan bahwa pertumbuhan tunas lebih dipengaruhi oleh umur, bukan faktor kimia medium. Inkubasi biak pada kondisi gelap atau intensitas cahaya rendah tidak mendorong terjadinya etiolasi atau pemanjangan tunas. Cahaya hanya berpengaruh terhadap pembentukan klorofil yang ditunjukkan oleh warna tunas yang hijau pada biak yang dipelihara dengan intensitas cahaya yang tinggi. Gejala etiolasi yang diinginkan dengan pengurangan cahaya tidak terjadi pada percobaan ini.

Pembesaran tunas dapat didorong dan dipercepat dengan menumbuhkannya pada medium cair. Pertumbuhan tunas, daun dan akar yang secara nyata lebih baik pada medium cair daripada di medium padat dilaporkan pada plantlet *Alocasia amazonica* (Jo *et al.* 2008). Pada *Wasabia japonica* (Hung *et al.* 2006), laju perbanyakan tunas meningkat 50% dan berat basah dari masing-masing tunas meningkat 100% pada medium cair dibanding pada medium padat.

Pertumbuhan tunas dan laju perbanyakan yang lebih baik pada medium cair dibanding medium padat juga didapat pada *Dioscorea fordii* (Yan *et al.* 2010). Pada medium cair, seluruh bagian inokulum terpapar medium sehingga memungkinkan serapan hara, gula dan zat pengatur tumbuh merata pada seluruh permukaan inokulum. Sedangkan pada medium padat, hanya jaringan yang bersentuhan dengan medium yang mungkin terpapar hara dan sumber karbohidrat, sedangkan tunas/mata tunas yang tumbuh pada permukaan atas yang tidak terpapar medium kemungkinan hanya mendapatkan hara melalui difusi dari bagian yang kontak dengan medium. Tetapi, pada kelapa, perkecambahan embrio terjadi dengan frekuensi yang lebih tinggi pada medium padat daripada medium cair (Pech y Aké *et al.* 2007).

Penumbuhan tunas pada medium cair mengakibatkan pertumbuhan tunas yang hiperhidrik sehingga tidak dapat beregenerasi dan tidak dapat tumbuh menjadi tanaman seperti pada *Aloe polyphylla* (Ivanova & Van Staden, 2010), apple (Marga *et al.* 1997) dan *Eucalyptus* (Whitehouse *et al.* 2002). Pada biak tunas *A. titanum*, tunas hiperhidrik tidak dijumpai. Namun demikian, penggunaan medium cair beresiko kehilangan biak yang lebih banyak dari pada penggunaan medium padat karena kontaminasi (data tidak dipublikasi).

Pertumbuhan mata tunas menjadi tunas dengan seludang tertutup masih terjadi dengan frekuensi yang rendah.

Pembentukan daun terbuka dari tunas berseludang juga masih sangat rendah. Pada *A. muellerii*, tunas adventif yang terbentuk tumbuh melalui tahap tunas berseludang yang tumbuh menjadi tunas berdaun terbuka tanpa halangan (Imelda *et al.* 2008). Bahwa pertumbuhan mata tunas menjadi tunas terjadi pada medium cair lebih daripada medium padat menunjukkan bahwa keseragaman pertumbuhan memegang peran penting sebelum perkembangan dapat terjadi. Mata tunas perlu tumbuh sampai ukuran tertentu sehingga dapat tumbuh membentuk tunas berseludang. Pertumbuhan mata tunas sampai tunas berseludang merupakan tahapan perkembangan (diferensiasi), bukan sekedar pertumbuhan (growth). Nampaknya diperlukan akumulasi biomassa sehingga mata tunas tumbuh membesar sebelum tumbuh memanjang.

Tunas atau planlet yang dihasilkan melalui metoda yang telah dikembangkan yaitu kombinasi medium padat untuk tahap induksi, medium cair untuk proliferasi dan pembesaran tunas dan dilanjutkan dengan medium padat untuk pengakaran. Planlet dapat diaklimatisasi dan tumbuh di polibag. Karena itu metoda ini dapat dipakai untuk perbanyakan masal *A. titanum* yang habitatnya terancam untuk tujuan pertukaran plasma nutfah dengan kebun raya di seluruh dunia maupun untuk tujuan komersial. Pertukaran bahan tanaman dari perbanyakan *in vitro* juga memperkecil resiko pemindahan organism pengganggu seperti virus atau bakteri.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini didanai dari Program Peningkatan Kinerja Peneliti dan Perekayasa, Kementerian Riset dan Teknologi 2009-2011. Bantuan teknis dari Aryani Leksonowati, dan Dyah Martanti sangat dihargai.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim (1998) Putrid plants put on a rare show. *Science* 281 (5374): 169
- Ban, H., X. Chai, Y. Lin, Y. Zhou, D. Peng , Y. Zhou, Y. Zou, Z. Yu & M. Sun. 2009. Transgenic *Amorphophallus konjac* expressing synthesized acyl-homoserine lactonase (aiiA) gene exhibit enhanced resistance to soft rot disease. *Plant Cell Rep.* 28:1847–1855
- Hu, JB, J.Liu, HB. Yan, & CH. Xie. 2005. Histological observations of morphogenesis in petiole derived callus of *Amorphophallus rivieri* Durieu in vitro. *Plant Cell. Rep.* 24: 642–648.
- Hung, CD, K Johnson & F. Torpy. 2006. liquid culture for efficient micropropagation of *Wasabia japonica* (Miq.) Matsumura. *In Vitro Cell. Dev. Biol.Plant* 42:548–552
- Huabing, Y., Y. Litao, & L. Yangrui. 2010. Axillary shoot proliferation and tuberization of *Dioscorea fordii* Prain et Burk. *Plant Cell Tiss Organ Cult (Online First)* DOI 10.1007/s11240-010-9818-1. http://www.springerlink.com/content/j030074268_822v0k/fulltext.pdf
- Imelda, M, A. Wulansari, YS. Poerba. 2007. Mikropropagasi tanaman iles-iles (*Amorphophallus muelleri* Blume). *Berita Biologi* 8 (4): 271-277.
- Imelda, M, A. Wulansari, YS. Poerba. 2008. Shoot regeneration from leaf petioles of iles-iles (*Amorphophallus muelleri* Blume). *Biodiversitas* 9(3): 173-176.
- Irawati. 2011. Micropropagation of *Amorphophallus titanum* Becc. (Araceae). *Bul. Kebun Raya* 14:29-36
- Irawati, AJ, & LP. Nyman. 1986. In vitro propagation of the elephant yam, *Amorphophallus campanulatus* Var. *hortensis* Backer (Araceae). *Ann. Bot.* 57:11–17
- Ivanova, M & J. Van Staden. 2010. Influence of gelling agent and cytokinins on the control of hyperhydricity in *Aloe polyphylla*. *Plant Cell Tiss Organ Cult* DOI 10.1007/s11240-010-9794-5 (online first) (<http://www.springerlink.com/content/n58m3471p831819g/fulltext.pdf>)
- Jo, UA , Murthy HN., EJ. Hahn & KY. Paek. 2008. Micropropagation of *Alocasia amazonica* using semisolid and liquid cultures. *In Vitro Cell.Dev.Biol.-Plant* 44:26–32
- Kohlenbach, HW. 1988. In vitro propagation of *Amorphophallus titanum* Becc. and *Amorphophallus rivieri* Durieu. *Acta Hort.* 226:65–72

- Lobin, W, M. Neumann., M. Radscheit & W. Barthlott. 2007. The cultivation of Titan Arum (*Amorphophallus titanum*) – A flagship species for Botanic Gardens. *Sibbaldia* 5: 69-86. (www.botgart.uni-bonn.de/o_samm/docs/sibbaldia5.pdf)
- Marga, F., L. Vebret, H. Morvan. 1997. Agar fractions could protect apple shoots cultured in liquid media against Murashige T & Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with
- Murashige, T. & F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15:473-97.
- Pech, y Aké A, B. Maust, A. Orozco-Segovia & C. Oropeza. 2007. The effect of gibberellic acid on the in vitro germination of coconut zygotic embryos and their conversion into plantlets. *In Vitro Cell.Dev.Biol. Plant.* 43:247–253
- Varshney, A., V. Dhawan & P. Srivastava 2000. A protocol for in vitro mass propagation of asiatic hybrids of lily through liquid stationary culture. *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant* 36:383-391
- Whitehouse, AB, TR. Marks, GA. Edwards. 2002. Control of hyperhydricity in *Eucalyptus* axillary shoot cultures grown in liquid medium. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 71:245–252
- Yan, H., L. Yang & Y. Li. 2010. Improved growth and quality of *Dioscorea fordii* Prain et Burk and *Dioscorea alata* plantlets using a temporary immersion system. *African J. Biotech.* 10: 19444-19448.

Memasukkan: Maret 2012

Diterima: September 2012