

# Regenerasi Tunas dari Kultur Tangkai Daun Iles-iles (*Amorphophallus muelleri* Blume)

## Shoot regeneration from leaf petioles of iles-iles (*Amorphophallus muelleri* Blume)

MARIA IMELDA<sup>1,\*</sup>, AIDA WULANSARI<sup>1</sup>, YUYU SURYASARI POERBA<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Cibinong-Bogor 16911.

<sup>2</sup> Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Cibinong-Bogor 16911.

Diterima: 27 Nopember 2007. Disetujui: 28 Mei 2008.

### ABSTRACT

Iles-iles (*Amorphophallus muelleri* Blume) of the Araceae is a source of carbohydrate with a high content of glucomannan which is very useful in preventing several diseases like diabetes, high blood cholesterol, high blood pressure, etc. In industry, the tuber is used as a raw material for paper pulp, textile, gum, celluloid, food and cosmetics. Generally, iles-iles is propagated by splitting tubers, bulbils or leaf cuttings, but this method can not yield high quality planting materials and sometimes may carry along many diseases. In this investigation, an in vitro method for shoot regeneration of iles-iles from petiole explants was developed. Sterilization of the explants was carried out in 0.05% HgCl<sub>2</sub> for 20 min. after dipping in 70% ethanol and Tween 20 solution. Leaf petioles about 1 cm in length were cultured on Murashige & Skoog (MS) medium with a pH of 5.8 containing 30 g sucrose and 2.5 g Gelrite agar. The formation of adventitious shoots was induced on MS medium containing 1, 2, and 4 mg/L Benzyl Amino Purine (BAP) either with or without the addition of 0.1, 0.2 and 0.5 mg/L Naphthalene Acetic Acid (NAA). Each treatment was done on 10 explants. All cultures were incubated at 26°C on a 16-h photoperiod with an illumination of 30 µmol m<sup>-2</sup> sec<sup>-1</sup> provided by 40-W cool white inflorescent lights. The highest rate of shoot multiplication averaging 19 shoots per explants was achieved within 3 months on MS medium containing 2 mg/L BAP. However, the best shoot elongation was found on MS medium containing 2 mg/L BAP and 0.2 mg/L NAA.

© 2008 Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta.

**Key words:** *Amorphophallus muelleri* Blume, leaf petiole culture, benzyl amino purine (BAP), naphthalene acetic acid (NAA).

### PENDAHULUAN

Iles-iles (*Amorphophallus muelleri* Blume) dari suku Araceae, adalah tanaman tahunan yang sangat berpotensi untuk dijadikan makanan diet mengingat kandungan glukomanannya sangat tinggi ( $\pm$  40%). Manan merupakan senyawa polisakarida yang bila dicampur dengan air dingin dapat membentuk massa kental yang lekat sedangkan dengan senyawa tertentu seperti soda, dapat membentuk lapisan kering yang sangat tipis. Umbi iles-iles berserat banyak dan tidak mengandung kolesterol. Di Jepang, tepung umbi iles-iles dimanfaatkan sebagai bahan pembuat konyaku (sejenis tahu) dan shirataki (sejenis mi) atau sebagai pengganti agar-agar dan gelatin.

Umbi iles-iles banyak digunakan dalam industri kertas, tekstil, cat, bahan negatif film, bahan isolasi, pita seluloid dan bahan kosmetika (Ermiaji dan Laksmanahardja, 1996). Sebagian besar iles-iles Indonesia diekspor ke Jepang, namun belum bisa memenuhi permintaan, sehingga prospek pengembangan dan peluang ekspornya masih tinggi. Untuk mengisi peluang ekspor iles-iles ini perlu dilakukan pembudidayaannya secara luas, intensif dan berkelanjutan. Guna merealisasikan tujuan tersebut dibutuhkan teknik

perbanyak yang efektif dan efisien, yang dapat diperoleh melalui penerapan teknik kultur jaringan yang telah diketahui sebagai teknik yang mampu menyediakan bibit berbagai tanaman secara cepat dan seragam dalam jumlah tidak terbatas serta berkesinambungan.

Perbanyak tanaman iles-iles umumnya dilakukan secara vegetatif melalui umbi, bulbil dan setek daun. Sebenarnya perbanyak iles-iles juga dapat dilakukan melalui biji, namun iles-iles merupakan tanaman triploid apomiksis yang bukan merupakan hasil rekombinasi kedua tetuanya (Jansen *et al.*, 1996), karena itu keragaman genetiknya sangat terbatas. Pengembangan teknik kultur jaringan atau teknik in vitro bagi perbanyak tanaman iles-iles telah berhasil dilakukan melalui kultur tunas pucuk (Imelda dkk., 2007). Penguasaan teknik tersebut, selain bermanfaat bagi penyediaan bibit unggul diharapkan dapat dijadikan langkah awal bagi perbaikan mutu genetik iles-iles baik melalui poliploidisasi, induksi mutasi maupun hibridisasi somatik.

Penggunaan tangkai daun (petiole) sebagai sumber eksplan sudah banyak diterapkan pada kultur jaringan tanaman hias, antara lain pada *Begonia gracilis* (Castillo dan Smith, 1997), *Pelargonium x hortorum* (Agarwal dan Ranu, 2000; Pradeep dan Rajinder, 2000), *Pelargonium x domesticum* (Cassells dan Carney, 1987) pada helai daun *Anthurium andrawanum* (Martin *et al.*, 2003) serta *Caladium hibrida* (Irawati, 2005). Penerapan kultur tangkai daun pada tanaman iles-iles belum pernah dilaporkan.

Tangkai daun (petiole) merupakan eksplan alternatif yang menguntungkan karena pengambilan tangkai daun ini

#### ▼ Alamat korespondensi:

Jl. Raya Bogor km 46, PO. BOX 422, Cibinong, Bogor 16911  
Tel : + 62- 21-8754587 Fax : + 62-21 -8754588  
E-mail : maria\_tahardi@yahoo.com

tidak merusak umbi, sehingga tidak mengganggu tanaman induk. Selain itu, tangkai daun juga lebih mudah diperoleh dalam jumlah banyak.

Sitokinin dan auksin merupakan zat pengatur tumbuh yang banyak digunakan dalam kultur jaringan tanaman. Sitokinin seperti benzylaminopurine (BAP) sangat berperan dalam pembentukan dan penggandaan tunas in vitro, sedangkan auksin seperti naphthaleneacetic acid (NAA) berperan dalam pembentukan akar dan perpanjangan sel. Dalam tulisan ini akan diteliti kemampuan tangkai daun iles-iles untuk meregenerasikan tunas in vitro, melalui penambahan zat pengatur tumbuh BAP dan NAA

## BAHAN DAN METODE

### Bahan tanaman

Tangkai daun tanaman iles-iles (*A. muelleri*) yang ditumbuhkan dalam polibag di kamar kaca, berumur sekitar 4 bulan sejak tunasnya muncul dari umbi, digunakan sebagai sumber eksplan (Gambar 2a). Tangkai daun tersebut dipotong-potong sepanjang 8 cm (Gambar 2b), lalu dicelupkan dalam alkohol 70% dan Tween 20, kemudian disterilkan dalam larutan HgCl<sub>2</sub> 0,05% selama 20 menit. Selanjutnya bahan tersebut dibilas beberapa kali dengan akuades steril untuk membersihkan sisa HgCl<sub>2</sub> di dalam laminar air flow cabinet. Tangkai daun dipotong sepanjang ± 1 cm, kemudian ditumbuhkan pada media yang telah disiapkan beberapa hari sebelumnya.

### Media tumbuh dan perlakuan zat pengatur tumbuh

Media yang digunakan adalah media padat dengan komposisi Murashige & Skoog (MS) (1962) yang diberi sukrosa 3% dan agar gelrite 2,5 g/L. Keasaman media diatur sampai mencapai pH 5,8 dengan penambahan larutan KOH atau HCl. Selanjutnya media tersebut diautoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Untuk menginduksi pembentukan tunas melalui proses organogenesis, ke dalam media MS tersebut ditambahkan zat pengatur tumbuh *benzyl amino purine* (BAP) sebanyak 1, 2 dan 4 mg/L tanpa penambahan auksin ataupun yang dikombinasikan dengan *naphthalene acetic acid* (NAA) dengan konsentrasi 0,1; 0,2 dan 0,5 mg/L. Setiap perlakuan dilakukan pada 10 eksplan. Semua kultur tersebut diinkubasikan dalam ruang ber-AC yang suhunya ±26°C dan mendapat pencahayaan dari lampu TL 40 watt sebesar 30 µmol/ m<sup>2</sup>/det selama 16 jam/hari. Subkultur ke media dengan komposisi serupa dilakukan setiap 4 minggu.

### Pengamatan

Pengamatan dilakukan setiap dua minggu terhadap perkembangan kultur yang tumbuh, jumlah tunas in vitro, waktu yang diperlukan bagi penggandaan tunas dan pembentukan akar.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa sekitar satu minggu setelah dikulturkan, potongan tangkai daun mulai membengkak pada salah satu ujungnya, atau kadang-kadang pada kedua ujungnya. Dalam perkembangan selanjutnya, dari bagian yang membengkak tersebut terbentuk tonjolan-tonjolan kecil yang kemudian tumbuh menjadi bakal tunas melalui proses organogenesis dalam waktu 8-9 minggu. Pada media yang mengandung 2-4 mg/L

BAP dan 0,1-0,5 mg/L NAA terbentuk sedikit kalus. Dalam waktu 12 minggu jumlah bakal tunas adventif yang terbentuk berkisar antara 5-19, tergantung pada komposisi media yang digunakan (Tabel 1).

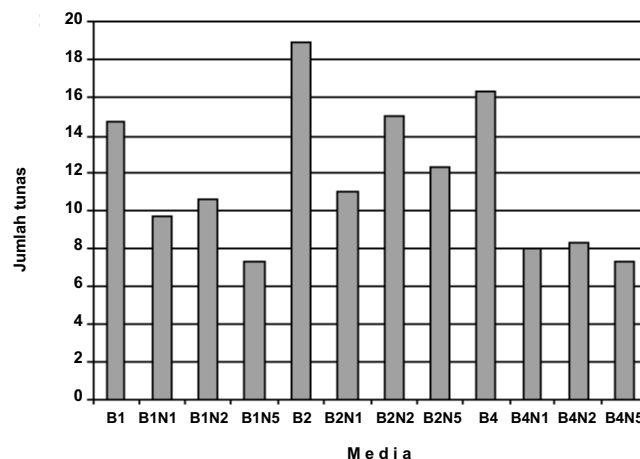
Pada semua media yang diuji, hanya 70% eksplan potongan tangkai daun iles-iles yang mampu meregenerasikan tunas. Pada kultur pelepah daun *Caladium hibrida*, makin dekat jaraknya dengan pangkal pelepah atau ujung pelepah daun makin tinggi kemampuannya untuk membentuk tunas adventif (Irawati, 2005). Menurut Agarwal dan Ranu (2000), keberhasilan morfogenesis in vitro tergantung pada berbagai faktor, meliputi status fisiologi dari tanaman induk, macam dan umur eksplan, komposisi media serta jenis, konsentrasi, dan keseimbangan zat pengatur tumbuh (ZPT) yang ditambahkan.

BAP merupakan zat pengatur tumbuh yang sangat efektif dalam menginduksi proliferasi tunas in vitro banyak jenis tanaman dibandingkan dengan sitokinin lain yang umum digunakan dalam kultur jaringan tanaman (George dan Sherrington, 1984). BAP sudah terbukti efektif dalam merangsang proliferasi tunas in vitro berbagai tanaman buah-buahan seperti pepaya (*Carica papaya*), jeruk (*Citrus spp.*), manggis (*Garcinia mangostana*) (Litz dan Jaiswal, 1991), dan pisang (*Musa acuminata x balbisiana*) (Imelda, 1991).

**Tabel 1.** Pengaruh zat pengatur tumbuh BAP dan NAA terhadap jumlah tunas in vitro iles-iles (*A. muelleri*).

Media	Jumlah tunas (rata-rata)
B1	14,67 <sup>cde</sup>
B1N1	9,67 <sup>bc</sup>
B1N2	10,67 <sup>bcd</sup>
B1N5	7,33 <sup>ab</sup>
B2	19,00 <sup>e</sup>
B2N1	11,00 <sup>bcd</sup>
B2N2	15,00 <sup>cde</sup>
B2N5	12,33 <sup>bcd</sup>
B4	16,33 <sup>de</sup>
B4N1	8,00 <sup>b</sup>
B4N2	8,33 <sup>b</sup>
B4N5	7,33 <sup>ab</sup>

**Keterangan:** Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji LSD pada taraf 0,05%. B = BAP (mg/L); B1 = 1, B2 = 2, B4 = 4. N = NAA (mg/L); N1 = 0,1 N2 = 0,2 N5 = 0,5.



**Gambar 1.** Jumlah tunas in vitro iles-iles (*A. muelleri*) rata-rata pada media MS yang diberi zat pengatur tumbuh BAP dan NAA.



**Gambar 2.** Regenerasi tunas dari kultur tangkai daun iles-iles (*Amorphophallus muelleri*): (a). Tanaman iles-iles yang sedang berbunga, (b). Tanaman induk, (c). Tangkai daun untuk bahan eksplan, (d). Bakal tunas muncul dari potongan tangkai daun, (e). Bakal tunas (*close up*), (f). Tunas *in vitro* yang lebih dewasa, (g). Tunas *in vitro* yang sudah siap untuk diaklimatisasikan, (h). Planlet yang sudah siap untuk diaklimatisasikan.

Pengamatan pada umur 3 bulan menunjukkan bahwa jumlah tunas rata-rata iles-iles terbanyak diperoleh pada media B2 yang mengandung BAP 2 mg/L yaitu 19. Peningkatan konsentrasi BAP menjadi 4 mg/L tidak meningkatkan jumlah tunas yang terbentuk karena setelah mencapai kadar optimal, peningkatan kadar BAP menghambat pertumbuhan/perpanjangan tunas. Hal serupa juga dilaporkan oleh Al-Bahrany (2002) pada jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*). Menurut Agarwal dan Ranu (2000), pada geranium (*Pelargonium x hortorum*), kadar zat pengatur tumbuh yang optimal bagi pembentukan tunas adventif berbeda antar kultivar. Pengaruh ZPT terhadap kemampuan regenerasi sangat kompleks dan berkaitan dengan kondisi fisiologi dari tanaman in vivo. Keseimbangan antara auksin dan sitokinin sangat diperlukan untuk memperoleh hasil yang optimal bagi pembentukan tunas dan akar. Oleh sebab itu untuk memperoleh hasil yang optimal pada kultur tangkai daun iles-iles ini, perlu dicari kondisi terbaik bagi pertumbuhannya, antara lain penggunaan jenis, konsentrasi serta keseimbangan ZPT yang tepat.

Pemberian BAP yang dikombinasikan dengan NAA, ternyata menghasilkan tunas yang lebih cepat perpanjangannya, walaupun jumlah tunasnya lebih sedikit dibandingkan dengan yang diberi BAP saja tanpa NAA. Kombinasi terbaik bagi pembentukan dan perpanjangan tunas adalah BAP 2 mg/L dan NAA 0,2 mg/L. Pada kadar NAA yang lebih tinggi (0,5 mg/L) atau lebih rendah (0,1 mg/L), jumlah tunas yang terbentuk menurun (Tabel 1.). Hal ini menunjukkan bahwa keseimbangan antara sitokinin (BAP) dan auksin (NAA) sangat diperlukan untuk memperoleh hasil yang optimal bagi penggandaan dan perpanjangan tunas. Pada tahap selanjutnya, tunas terbanyak yang diperoleh pada media yang hanya diberi BAP 2 mg/L, perlu disubkultur ke media dengan kadar BAP yang lebih rendah, agar perpanjangan tunasnya lebih cepat.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa tangkai daun iles-iles merupakan sumber eksplan yang baik dan efisien dalam menghasilkan tunas adventif (Gambar 1c-g), walaupun jumlah tunas yang dihasilkan masih lebih rendah dari pada yang diperoleh dari kultur tunas pucuk (Imelda dkk., 2007). Selain itu, tangkai daun juga lebih mudah disediakan dan pengambilannya tidak merusak umbi/tanaman induknya. Pengamatan secara visual terhadap tunas in vitro dan planlet iles-iles asal tangkai daun tersebut menunjukkan adanya tunas adventif dengan morfologi yang berbeda (varian), yaitu daunnya menjadi belang hijau putih (variegata), walaupun jumlahnya sangat sedikit (kurang dari 5%). Cassels dan Carney (1987), melaporkan bahwa pada kultur tangkai daun *Pelargonium x domesticum* 'Grand Slam' varian yang muncul bisa sampai 16% dari regenerasi tunas adventif.

Pada iles-iles, perubahan warna daun tersebut tampaknya hanya bersifat sementara karena setelah disubkultur daun yang belang-belang putih hijau kembali menjadi hijau normal. Menurut Mujib (2004), perubahan morfologi serupa itu merupakan variasi temporer atau variasi fisiologi yang antara lain dapat ditimbulkan oleh

penambahan berbagai zat pengatur tumbuh/fitohormon selama proses pengkulturan in vitro.

## KESIMPULAN

Tangkai daun merupakan sumber eksplan yang efisien untuk perbanyak in vitro iles-iles. Jumlah tunas terbanyak yaitu 19 tunas dalam waktu 3 bulan, diperoleh pada media MS yang mengandung 2 mg/L BAP.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Program Kompetitif Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Sub-program Domestikasi Keanekaragaman Hayati yang telah mendanai penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agarwal, P.K. and R.S. Ranu. 2000. Regeneration of plantlets from leaf and petiole explants of *Pelargonium X hortorum*. *In vitro Plant* 36 (5): 392-397.
- Al-Bahrany, A.M. 2002. Effect of phytohormones on in vitro shoot multiplication and rooting of lime *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swing. *Scientia Horticulturae* 95 (4): 285-295.
- Cassels, A.C., and B.F. Carney. 1987. Adventitious regeneration in *Pelargonium x domesticum* Bailey. *Acta Horticulturae* 212 (2): 419-425.
- Castillo, B. and M.A.L. Smith. 1997. Direct somatic embryogenesis from *Begonia gracilis* explants. *Plant Cell Reports* 16 (6): 385-388.
- Ermiani dan M.P.Laksmanahardja. 1996. Manfaat iles-iles (*Amorphophallus* spp.) sebagai bahan baku makanan dan industri. *Jurnal Litbang Pertanian* 15 (3): 74-80.
- George, E.F. and P.D. Sherrington. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture*. London: Exegetics Limited.
- Imelda, M. 1991. Penerapan teknologi in vitro dalam penyediaan bibit pisang. *Prosiding Seminar Bioteknologi Perkebunan dan Lokakarya Biopolimer untuk Industri*. PAU Bioteknologi IPB, Bogor.
- Imelda, M., A.Wulansari, Y.S. Poerba. 2007. Mikropropagasi tanaman iles-iles (*Amorphophallus muelleri* Blume). *Berita Biologi* 8 (4): 271-277.
- Irawati. 2005. Pembentukan kalus dan embriogenesis kultur pelepah daun dan daun *Caladium hibrida*. *Berita Biologi* 7 (5): 257-261.
- Jansen, C.M., C. van der Wilk, and W.L.A. Hettterscheid. 1996. *Amorphophallus* Blume ex Decaisne. In: Flach, M. and F. Rumawas (eds.). *Plant Resource of South East Asia, No 9, Plant Yielding Non-seed Carbohydrates*. Bogor: Prosea.
- Litz, R.E. and V.S. Jaiswal. 1991. Micropropagation of tropical and subtropical fruits. In: Deberg, P.C. and R.H. Zimmerman (eds.). *Micropropagation: Technology and Applications*. Dordrecht: Kluwer Academic.
- Martin, K.P., D. Joseph, J. Madassey, and V.J. Philip. 2003. Direct shoot regeneration from lamina explants of two commercial cut flower cultivars of *Anthurium andrawanum* Hort. *In vitro Plant* 39 (5): 500-504.
- Mujib, A. 2004. In vitro variability in tissue culture a freshlook. In: Mujib, A., M.-J. Cho, S. Predieri, and S. Banerjee (eds.). *In vitro Application in Crop Improvement*. New Delhi: Oxford & IBH Publishing Co.Pvt.Ttd.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiology of Plant* 15: 473-497.
- Pradeep, K.A. and S.R. Rajinder. 2000. Regeneration of plantlets from leaf and petiole explants of *Pelargonium x hortorum*. *In vitro Plant* 36 (5): 392-397.