

INDUKSI KALUS TIGA KULTIVAR LILI (*Lilium* sp) DARI PETAL BUNGA PADA BEBERAPA MEDIA

Callus induction of three cultivars Lilium sp from petals on several medium

Ridho Kurniati¹⁾, Agus Purwito²⁾, GA Wattimena²⁾, Budi Marwoto¹⁾ dan Supenti¹⁾

¹Balai Penelitian Tanaman Hias, Jl.Raya Ciherang PO. Box 8 Sdl Cianjur 43253,
Email : fildzaku@yahoo.co.id

²Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian- Institut Pertanian
Bogor, Jl.Meranti Kampus IPB 16680

ABSTRACT

It has been usual that vegetatif propagation of lilium was using bulb scale or bulbs. Another kind of vegetatif propagation used petals. Different stage of developing flower buds was used in this research. The objectives of this research was obtained the best medium for callus induction from different stage of developing flower buds as explant, to know best stage of flower bud was using to callus induction of lilium. The best medium for callus induction was MS + 0.3 mg/l TDZ +30 g/l sucrosa. The stage of developing flower bud was obtained on D₂ stadia, whereas diameter flower bud was 2.15 cm and 7 cm length. Frutty pink cultivar more responsif to callus induction media than other cultivars (sorbon and purple diamond).

Key words : TDZ (thidiazuron),lilium, callus induction

PENDAHULUAN

Lili merupakan tanaman hias potensial yang dikembangkan untuk produksi umbi dan bunga potong. Kebutuhan umbi di Indonesia cukup tinggi, tetapi untuk memenuhi kebutuhan tersebut Indonesia masih mengimpor dari negara lain. Direktorat Perbenihan dan Sarana Produksi Direktorat Jenderal Hortikultura (2011) mencatat bahwa impor lili dari tahun ke tahun mengalami peningkatan. Impor lili tahun 2008 sebanyak 1.273.550 umbi, pada tahun 2009 meningkat menjadi 2.201.500 umbi dan pada tahun 2010 menjadi 2.992.390 umbi.

Ketergantungan impor ini mendorong upaya perbanyak dan pengembangan lili di Indonesia perlu dilakukan. Perbanyak lili umumnya melalui perbanyak vegetatif melalui umbi (Tan Nhut *et al.*2010). Perbanyak ini perlu waktu lama sekitar 3- 5 tahun. Pada beberapa jenis lili, khususnya jenis oriental yang beraroma wangi serta petal besar memiliki tipe perkecambahan hipogeal, di mana umbi ini mengalami masa dormansi (Pekkapelkonen. 2005). Dormansi ini secara langsung akan memperpanjang waktu dalam budidayanya, karena umbi tidak dapat langsung digunakan sebagai bibit. Dengan demikian perlu teknologi yang tepat dalam menghasilkan bibit yang siap digunakan. Beberapa cara yang digunakan antara lain dengan perbanyak tanaman lili secara *in vitro* dengan menggunakan eksplan basal bunga dan petal (Tribulato *et al.* 1997), sisik umbi (Kumar *et al.* 2005), dan daun (Ling Fei *et al.* 2009). Hasil-hasil penelitian tersebut belum sepenuhnya mencapai produk yang maksimal, sehingga perlu dilakukan pengembangan metode yang lebih efektif.

Induksi kalus secara *in vitro* dapat menghasilkan planlet dalam jumlah lebih banyak di bandingkan dengan perbanyakan melalui umbi secara konvensional. Pemilihan eksplan dan penggunaan media yang tepat serta zat pengatur tumbuh yang sesuai dapat menghasilkan tanaman yang baik dan produksi tinggi. Zat pengatur tumbuh yang digunakan untuk menginduksi kalus umumnya adalah TDZ (*thidiazuron*) dan 2.4 D serta jenis auksin lainnya. Eksplan yang digunakan umumnya yang mampu beregenerasi dan memiliki sel yang meristematik.

Tujuan penelitian ini ialah mendapatkan media kalus lili dan regenerasinya menjadi planlet, kultivar lili yang responsif membentuk kalus serta stadia perkembangan kuncup bunga terbaik untuk menghasilkan kalus.

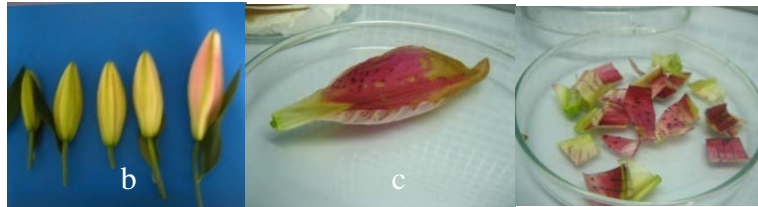
BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium kultur jaringan Kebun Percobaan Balai Penelitian Tanaman Hias Cipanas, dari bulan Pebruari sampai dengan Oktober 2011. Bahan yang digunakan yaitu petal bunga lili yang masih kuncup dengan beberapa stadia perkembangan kuncup bunga (D_1 , D_2 , D_3 , D_4 dan D_5). Kuncup bunga yang digunakan terdiri atas 3 kultivar lili yaitu dua jenis lili oriental (frutty pink dan sorbon) dan satu jenis lili asiatic (purple diamond). Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap pola faktorial dengan dua perlakuan dan tiga ulangan. Faktor pertama ialah stadia perkembangan kuncup bunga terdiri atas 6 stadia yaitu D_1 : diameter kuncup 1.9 cm dengan panjang kuncup 6 cm, D_2 : diameter kuncup 2.15 cm dengan panjang kuncup 7 cm, D_3 : diameter 2.6 cm dengan panjang kuncup 7.9 cm, D_4 : diameter 3 cm dengan panjang kuncup 8.5 cm dan D_5 : diameter 3.6 cm dengan panjang kuncup 10.5 cm. Faktor perlakuan kedua ialah komposisi media dengan empat taraf yaitu (1) A= MS (Murashige dan skoog medium)+ sukrosa 30g/l, (2) B= MS+ TDZ(thidiazuron) 0.1 mg/l+ sukrosa 30g/l, (3) C= MS+ TDZ 0.2 mg/l + sukrosa 30g/l, (4)D=MS+ TDZ 0.3 mg/l + sukrosa 30 g/l. Setiap perlakuan terdiri atas lima botol kultur dan tiga ulangan.

Sterilisasi eksplan dilakukan dengan membersihkan kuncup bunga dengan air mengalir, selanjutnya dicuci dengan detergen dan dibilas dengan air bersih. Kuncup bunga direndam dalam larutan fungisida 1% dan bakterisida 1% selama 30 menit, dilanjutkan dengan perendaman dengan klorok 5% selama 10 menit. Kuncup bunga selanjutnya dibilas dengan aquades steril hingga bersih. Di dalam *laminar air flow cabinet* (LAF), kuncup bunga direndam dalam alkohol 70% selama 5 menit, klorok 5% selama 10 menit dan dibilas aquades hingga bersih.

Kuncup bunga dari beberapa macam stadia (D_1, D_2, D_3, D_4 dan D_5) (Gambar 1) dibuka dan diambil satu per satu bagian petalnya. Tiap- tiap petal dipotong $\pm 1-1.5 \text{ cm}^2$ dan dilukai bagian tengahnya. Pelukaan ini untuk merangsang terbentuknya kalus. Potongan petal yang telah dilukai selanjutnya di tanam pada media inisiasi kalus sesuai perlakuan.

Potongan petal yang telah ditanam pada media induksi kalus ditempatkan pada ruang gelap pada suhu $24 \pm 1^\circ\text{C}$. Pengamatan dilakukan 1 minggu setelah tanam dan selanjutnya dilakukan secara kontinyu setiap minggu. Pengamatan terdiri atas waktu inisiasi kalus yaitu saat awal terbentuk kalus, persentase eksplan membentuk kalus, warna kalus dan berat awal kalus yang terbentuk dengan menimbang kalus yang terbentuk dengan timbangan analitis.



Gambar 1. (a) Beberapa stadia kuncup bunga, (b) Petal dari kuncup bunga, (c) Potongan petal kuncup bunga sebagai eksplan

HASIL DAN PEMBAHASAN

Induksi kalus, Berat kalus, dan Inisiasi umbi mikro

Pembentukan kalus dipengaruhi beberapa faktor antara lain genotip tanaman, jenis eksplan, jenis media dan zat pengatur tumbuh serta umur eksplan. Stadia perkembangan eksplan kuncup bunga berpengaruh terhadap pembentukan kalus dan banyaknya kalus yang di hasilkan. Stadia kuncup bunga muda memberikan respon terbaik dan inisiasi kalus lebih awal dibandingkan tahapan lanjut. Inisiasi kalus terbentuk 2 minggu setelah tanam pada kondisi gelap.

Tabel 1 menunjukkan bahwa kuncup bunga stadia D₁, D₂ dan D₃ pada ketiga kultivar dapat membentuk kalus pada media yang mengandung TDZ pada beberapa konsentrasi, dua minggu setelah tanam. Kuncup bunga stadia D₅ pada ketiga kultivar tidak menghasilkan kalus. Hasil ini menunjukkan bahwa stadia kuncup muda memiliki kemampuan untuk membentuk kalus lebih baik dibandingkan kuncup bunga yang hampir mekar (D₅). Pada jaringan tanaman yang muda terdiri atas sel-sel yang meristematik sehingga mampu melakukan pembelahan sel secara aktif. Pada kuncup bunga muda masih mengandung bagian yang hijau, bagian ini bila di tanam pada media yang sesuai akan terjadi proses fotosintesis sehingga akan terjadi anabolisme zat makanan untuk tumbuh dan berkembang. Pada kuncup bunga yang hampir mekar, lebih banyak mengandung pigmen lain seperti merah, kuning dan warna petal lain selain hijau.

Tabel 1. Respon eksplan membentuk kalus yang terbentuk 2 MST (minggu setelah tanam)

Kultivar	Stadia Kuncup	Media			
		A	B	C	D
I (sorbon)	D ₁	-	*	*	*
	D ₂	-	**	**	***
	D ₃	-	**	**	**
	D ₄	-	-	-	*
	D ₅	-	-	-	-
II (purple diamond)	D ₁	-	*	*	**
	D ₂	-	**	**	***
	D ₃	-	**	**	**
	D ₄	-	-	*	*
	D ₅	-	-	-	-
III (frutty pink)	D ₁	-	**	**	***
	D ₂	-	**	**	***
	D ₃	-	**	**	**
	D ₄	-	*	*	*
	D ₅	-	-	-	*

Keterangan : Tanda *, ** dan *** menunjukkan bahwa eksplan membentuk kalus serta volume kalus yang dihasilkan. Tanda (-) menunjukkan bahwa eksplan tidak membentuk kalus.

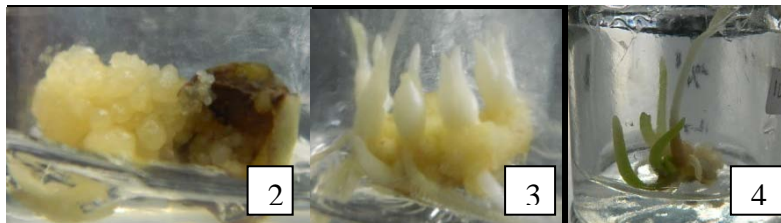
Pada tabel 1 dapat diketahui juga bahwa media A tidak dapat menginduksi terbentuknya kalus. Media ini tidak mengandung zat pengatur tumbuh TDZ. Hasil ini menunjukkan bahwa selain eksplan, faktor lain seperti zat pengatur tumbuh serta konsentrasi yang tepat juga diperlukan dalam induksi kalus. Media D yang mengandung 0.3 mg/l TDZ menghasilkan volume kalus terbanyak dibandingkan media yang lain. Kultivar frutty pink, menunjukkan respon terbaik pada media induksi kalus.

Tabel 2. Rata- rata eksplan membentuk kalus (%) 4 MST (Minggu Setelah Tanam)

Kultivar	Stadia Kuncup	Media			
		A	B	C	D
I (sorbon)	D ₁	15.71 ab	65.47 ab	21.43 ab	28.09 ab
	D ₂	15.56 a	56.11 a	55.44 a	37.22 a
	D ₃	9.06 b	26.90 b	38.57 b	20.48 b
	D ₄	19.05 b	31.06 b	22.73 b	24.09 b
	D ₅	16.43 b	21.19 b	47.38 b	11.43 b
II (purple diamond)	D ₁	33.00a	46.33a	42.67a	53.33a
	D ₂	13.00a	52.67a	63.67a	69.33a
	D ₃	10.33b	37.00b	35.33b	42.00b
	D ₄	6.67c	21.67c	20.00c	18.33c
	D ₅	3.67c	6.00c	11.67c	11.67c
III (frutty pink)	D ₁	22.00 b	40.00 b	53.33 b	45.33 b
	D ₂	37.33 a	62.67 a	64.00 a	69.33 a
	D ₃	25.33 cb	41.33 cb	37.33 cb	15.33 cb
	D ₄	15.33 c	37.67 c	26.00 c	32.00 c
	D ₅	4.67 d	9.33 d	6.00 d	9.00 d

Keterangan : angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji Duncan taraf 5 %.

Rata- rata eksplan membentuk kalus pada tiap tahapan perkembangan kuncup ketiga kultivar (Tabel 2) memiliki respon yang berbeda. Kultivar sorbon pada stadia D₂ tidak berbeda nyata dengan D₁ namun berbeda nyata dengan stadia lainnya. Pada D₁ dan D₂, kuncup pada stadia yang masih muda sehingga sel- selnya aktif membelah dan meristematik. Pada stadia ini juga diperoleh persentase eksplan membentuk kalus tertinggi pada beberapa media tanam. Hal ini membuktikan bahwa semakin muda kondisi eksplan maka akan responsif terhadap media dalam membentuk kalus. Pembentukan kalus merupakan pemanjangan sel yang disebabkan adanya TDZ sebagai zat pengatur tumbuh (Gill *et al.*2004).



Gambar 2-4. Respon eksplan petal lili pada empat jenis media: (2)kalus yang terbentuk pada media D, (3) umbi mikro yang terbentuk pada media A, (4) tunas yang terbentuk pada media C

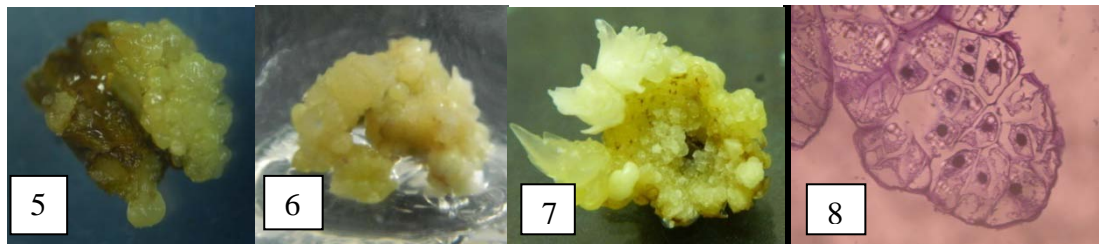
Respon eksplan terhadap media juga bervariasi, pada media yang sama untuk kultivar yang berbeda dapat terbentuk kalus, umbi mikro maupun tunas berakar. Respon yang terjadi ini memberi indikasi bahwa faktor genetik eksplan utamanya kultivar sangat menentukan kemampuan tanaman dalam beregenerasi baik secara tidak langsung melalui kalus maupun organogenesis langsung membentuk planlet dan tanaman lengkap (Gambar 2-4).

Berat kalus yang dihasilkan pada ketiga kultivar bervariasi, kultivar sorbon kalus terbanyak diperoleh pada media C pada stadia D₁, D₂ dan D₃. Namun tidak demikian pada kultivar frutty pink dan purple diamond, kalus terbanyak terbentuk pada eksplan stadia D₁ dan D₂ pada media B. Dari hasil ini diketahui bahwa faktor genetik berperan dominan dalam merespon media. Media merupakan faktor lingkungan pendukung bagi tumbuh dan berkembangnya tanaman (Tabel 3).

Tabel 3. Rata- rata berat kalus (g) tiga minggu setelah tanam.

Kultivar	Stadia uncup	K	Media			
			A	B	C	D
I (sorbon)	D ₁		0.55 ab	1.31ab	1.03ab	0.88ab
	D ₂		1.37 a	0.93a	1.43a	1.49a
	D ₃		0.83 ab	0.58ab	1.74a	0.82a
	D ₄		0.97 b	0.55b	0.84b	1.12b
	D ₅		0.73 b	0.81b	0.75b	0.78b
II (purple diamond)	D ₁		0.74 ab	0.33ab	1.23ab	0.84ab
	D ₂		0.63 a	1.59a	0.97a	1.04a
	D ₃		0.63 a	1.49a	1.33a	0.81a
	D ₄		0.61 ab	0.93ab	0.91ab	0.85ab
	D ₅		0.58 b	0.68b	0.45b	0.56b
III (frutty pink)	D ₁		0.29bc	1.1bc	0.69bc	1.06
	D ₂		1.29a	1.27a	1.12a	1.37a
	D ₃		0.71ab	1.44ab	1.41ab	0.66ab
	D ₄		0.65ab	1.03ab	0.99ab	1.41ab
	D ₅		0.55c	0.48c	0.58c	0.68c

Keterangan : angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji Duncan taraf 5 %



Gambar 5-8. Perkembangan kalus pada media induksi kalus. (5) Tahapan globular kalus, (6) Kalus embriogenik pada media D, (7) Organogenesis kalus membentuk bakal tunas, (8) Uji histologi kalus pada tahapan organogenesis

Tabel 4. Rata-rata jumlah umbi mikro empat minggu setelah tanam

Kultivar	Stadia Kuncup	Media			
		A	B	C	D
I (sorbon)	D ₁	3.33a	4.00a	2.00a	3.00a
	D ₂	3.67cb	2.00cb	2.33cb	1.00cb
	D ₃	2.33b	3.67b	2.00b	1.67b
	D ₄	1.33c	2.00c	1.00c	2.67c
	D ₅	1.67d	1.00d	1.00d	1.00d
II (purple diamond)	D ₁	2.67b	2.00b	2.00b	1.67b
	D ₂	2.67a	3.00a	3.00a	2.67a
	D ₃	2.67a	2.33a	2.33a	3.00a
	D ₄	1.67b	2.67b	2.33b	1.33b
	D ₅	1.00c	1.00c	1.00c	1.00c
III (frutty pink)	D ₁	2.17a	1.50a	4.50a	2.33a
	D ₂	3.22a	1.00a	1.00a	2.67a
	D ₃	1.67a	2.00a	3.33a	2.00a
	D ₄	1.00a	1.00a	3.50a	3.67a
	D ₅	1.00b	1.00b	1.00b	1.00b

Keterangan : angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji Duncan taraf 5 %.

Pada tabel 4 menunjukkan bahwa umbi mikro lebih banyak terbentuk pada media tanpa penambahan zat pengatur tumbuh. Respon ini berlaku sama pada ketiga kultivar. Hal ini disebabkan karena pada pembentukan umbi, eksplan lebih memerlukan karbon sebagai energi dan cadangan makanan di bandingkan dengan zat pengatur tumbuh. Kandungan sukrosa selain sebagai sumber karbon juga berperan dalam proses anabolisme dan katabolisme pembentukan umbi.

DAFTAR PUSTAKA

- Direktorat Perbenihan dan Sarana Produksi Direktorat Jenderal Hortikultura. 2011. Ekspor Impor Benih Tanaman Hias.
- Gill NK, R.Gill and Gisal.2004. Factors enhancing somatic embriogenesis in Coffee arabica. Agronomia costarica 32(1): 139- 147.
- Kumar S, V.Chaudhary and JT.Kanwar. 2008. Bulblet regeneration from *in vitro* roots of oriental lily hybrid. Journal of fruit and ornamental plant research. Vol.16: 353-360.

- Ling Fei X, M.Feng wang and L.dong. 2009. Plant regeneration from *in vitro* cultured leaves of Lanzhou lily (*Lilium davidii* var.unicolor). *Scientia Horticulturae* 119: 458-461.
- Pekkapelkonen V. 2005. Biotechnological approaches in Lily (*lilium*) production. Faculty of science. Departement of Biology, University of Oulu, Finlandia.
- Tan Nhut D, NT.Doan tam, V.Quac Luan and N.Q.Thien. 2010. Standarization of in vitro Lily (*Lilium*, sp) Planlets for propagation and bulb formation.
- Tribulato A, PC.Remotti and HJM. Loffler. 1997. Somatic embryogenic and plant regeneration. Dixon RA, *Plant cell culture, a practical approach*. Oxford : 79-105.