

Perbanyak *In Vitro Sansevieria trifasciata* 'Lorentii': Regenerasi Tunas, Pengakaran, dan Aklimatisasi Planlet

In Vitro Propagation of Sansevieria trifasciata 'Lorentii': Shoot Regeneration, Rooting, and Plantlet Acclimatization

Yusnita, Triani Wahyuningsih, Puji Sulistiana, dan Dwi Hapsoro*

Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, Gedung Bioteknologi
Jl. Sumantri Brojonegoro No. 1 Bandar Lampung 35145, Indonesia

Diterima 21 September 2012/Disetujui 24 Februari 2013

ABSTRACT

This research aimed to study effects of benzyladenine (BA) on in vitro shoot formation and effects of indolebutyric acid (IBA) and acclimatization media on ex vitro rooting and acclimatization of Sansevieria trifasciata 'Lorentii'. Leaf segments were taken from young fully-expanded leaves, surface sterilized and cultured on Murashige and Skoog (MS) basal medium containing 0.25 mg L⁻¹ 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) for 2 weeks, transferred to medium without growth regulator for 2 weeks, and then subcultured on MS medium containing BA (0, 0.5, 1 and 2 and 5 mg L⁻¹). The results showed that adventitious shoot regeneration occurred after callus formation. The best BA concentration was 2 mg L⁻¹, producing 4.5 shoots per explants in 3 months and 11.1 shoots per explant in 4 months. Application of 2000 ppm IBA and the use of acclimatization medium consisting rice husk charcoal and compost (1:1) produced the highest number of primary roots, length of roots and root fresh weight. However, the ex vitro rooting did not influence the success of plantlet acclimatization, the survival rate being 96% and there were no significant difference in plant growth.

Keywords: benzyladenine, ex vitro, indolebutyric acid, 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, micropropagation, Sansevieria trifasciata

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh benziladenin (BA) terhadap pembentukan tunas dan pengaruh asam indolbutirat dan campuran media terhadap pengakaran ex vitro dan aklimatisasi Sansevieria trifasciata 'Lorentii'. Potongan daun sebagai eksplan berasal dari daun muda yang sudah tumbuh penuh, disterilisasi, dan dikulturkan selama 2 minggu pada media Murashige and Skoog (MS) yang mengandung 0.25 mg L⁻¹ 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), lalu disubkultur ke media tanpa zat pengatur tumbuh selama 2 minggu, selanjutnya dipindahkan ke media MS yang mengandung BA (0, 0.5, 1, 2, dan 5 mg L⁻¹). Hasil percobaan menunjukkan, tunas adventif muncul melalui pembentukan kalus terlebih dahulu. Konsentrasi BA yang efektif untuk pembentukan tunas adalah 2 mg L⁻¹, yaitu dihasilkan 4.5 tunas per eksplan dalam 3 bulan dan 11.1 tunas per eksplan dalam waktu 4 bulan. Aplikasi 2000 ppm IBA dan media arang sekam + kompos (1:1) menghasilkan jumlah akar terbanyak dengan panjang dan bobot basah rata-rata tertinggi, namun metode pengakaran ex vitro tidak berpengaruh terhadap keberhasilan aklimatisasi. Rata-rata persen tanaman hidup pada waktu aklimatisasi adalah 96% dan tidak menghasilkan perbedaan pertumbuhan akibat perlakuan media dan IBA.

Kata kunci: asam indolbutirat, benziladenin, ex vitro, 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, pembiakan in vitro, Sansevieria trifasciata

PENDAHULUAN

Sansevieria (Sansevieria sp.) atau lidah mertua adalah tanaman hias daun sukulen anggota famili Agavaceae yang banyak diminati konsumen karena bentuk, warna dan corak daunnya yang beragam, indah dan mudah dipelihara, baik sebagai tanaman indoor maupun outdoor. Selain sebagai

*tanaman hias, Sansevieria dibudidayakan untuk tanaman penyerap beragam unsur polutan berbahaya di udara. Hasil penelitian Badan Antariksa AS (NASA) menunjukkan, tanaman ini mampu menyerap berbagai senyawa kimia berbahaya seperti kloroform, formaldehid, trikloroetilen, benzena, dan xilen (Wolverton *et al.*, 1988).*

Umumnya Sansevieria diperbanyak dengan pemisahan anakan atau setek daun. Kedua teknik ini membutuhkan bahan tanam dalam jumlah banyak, di samping itu, waktu yang dibutuhkan untuk menghasilkan tanaman baru juga

* Penulis untuk korespondensi. e-mail: hapsorodwi@yahoo.com

lama. Berdasarkan pengalaman, dengan cara pemisahan anakan, dari satu rumpun tanaman dengan 2-3 daun, dalam waktu 5 bulan hanya dihasilkan 2-3 anakan. Perbanyak dengan setek daun umumnya menghasilkan 1-2 tanaman dalam 2 bulan, dan hingga umur 5 bulan jumlah tanaman yang dihasilkan tidak bertambah.

Salah satu teknik perbanyakan alternatif yang dapat menghasilkan bibit dalam jumlah banyak dalam waktu relatif cepat adalah perbanyakan secara *in vitro*. Teknik ini memungkinkan dihasilkannya banyak tunas dari eksplan yang berukuran kecil, dan jika tunas yang berakar diaklimatisasi maka akan dihasilkan bibit tanaman dalam jumlah banyak (Kalimuthu *et al.*, 2007; Ali *et al.*, 2008).

Perbanyakan *in vitro* pada genus *Sansevieria* telah dilaporkan oleh beberapa peneliti. Blazich dan Novitzky (1984) melaporkan bahwa pengkulturan eksplan daun *Sansevieria trifasciata* 'Lorentii' (*S. trifasciata* 'Lorentii') di media MS + 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) selama dua minggu dilanjutkan dengan 2 minggu di media MS tanpa ZPT (MS0) dapat menginduksi kalus pada eksplan. Selanjutnya, subkultur eksplan ke media MS + kinetin menghasilkan inisiasi tunas adventif. Anis dan Shahzad (2005) melaporkan bahwa inisiasi tunas adventif secara langsung dari eksplan potongan daun *S. cylindrica* dihasilkan pada medium MS + benziladenin (BA) + naphthalene acetic acid (NAA). Hasil penelitian Shahzad *et al.* (2009) pada *S. cylindrica* menunjukkan bahwa induksi nodul dari eksplan potongan daun terjadi di media MS + indole butyric acid (IBA), sedangkan induksi kalus terjadi pada media MS + 2,4-D atau MS + 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid (2,4,5-T). Nodul atau kalus yang terbentuk tersebut, jika ditransfer ke media dengan penambahan BA + NAA akan mengalami organogenesis membentuk tunas adventif. Yusnita *et al.* (2011) melaporkan bahwa daya regenerasi tunas adventif pada eksplan potongan daun *S. trifasciata* 'Lorentii' lebih tinggi dibandingkan dengan *S. trifasciata* 'Hahnii' pada media dengan level sitokinin yang sama.

Inisiasi tunas adventif baik secara langsung dari eksplan maupun secara tidak langsung dari kalus sangat tergantung pada keberadaan sitokinin di media kultur. BA merupakan sitokinin yang banyak digunakan untuk merangsang perbanyakan tunas adventif atau tunas aksilar *in vitro* pada berbagai tanaman, misalnya tebu (Hapsoro, *et al.*, 2012), *Agave tequilana* (Valenzuela-Sánchez *et al.*, 2006), *Andrographis paniculata* (Purkayastha *et al.*, 2008) dan *Aloe arborescens* (Velcheva *et al.*, 2005). Kebutuhan akan jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh untuk proliferasi tunas sering bersifat spesifik tergantung genotipe tanaman yang dikulturkan. Oleh karena itu, konsentrasi dan jenis ZPT yang tepat untuk perbanyakan tunas *in vitro* pada genotipe tertentu perlu dicari (Hartmann *et al.*, 2011).

Sebelum planlet diaklimatisasi, tunas dapat diakarkan secara *in vitro* atau *ex vitro*. Kelebihan pengakaran *ex vitro* diantaranya bahwa biaya dan tenaga kerja dapat dihemat dan dihasilkan morfologi akar yang baik (Sumaryono dan Riyadi, 2011; Shekafandeh, 2007). Pengakaran secara *ex vitro*, biasanya memperlakukan tunas dengan auksin, lalu ditanam di media aklimatisasi dengan kelembaban tinggi di rumah kaca. Media aklimatisasi umumnya tidak

menggunakan tanah mineral, tetapi kombinasi antara bahan organik dan pasir atau vermikulit, tergantung ketersediaan dan harganya (Hartmann *et al.*, 2011). Campuran antara pasir hitam dan arang sekam atau pasir hitam dengan kompos mungkin merupakan alternatif yang baik untuk media aklimatisasi karena harganya relatif murah dan ketersediaannya berlimpah di Indonesia. Kedua campuran media tersebut dapat menghasilkan sifat fisik dan kimia media yang berbeda sehingga jika dikombinasikan dengan perlakuan auksin pada tunas mikro yang diaklimatisasi mungkin akan menghasilkan respons pertumbuhan akar yang berbeda.

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari (1) pengaruh BA pada pembentukan tunas *S. trifasciata* 'Lorentii' *in vitro* dari eksplan potongan daun dan (2) mempelajari pengaruh IBA dan dua jenis media aklimatisasi pada pembentukan akar *ex vitro* dan keberhasilan aklimatisasi planlet di rumah kaca.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium kultur jaringan tanaman, Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian Universitas Lampung dari Maret 2006 sampai dengan April 2007. Penelitian ini terdiri atas dua percobaan, yaitu (1) Pengaruh konsentrasi BA terhadap perbanyakan tunas adventif *in vitro*; dan (2) Pengaruh IBA dan media tanam terhadap pengakaran tunas *ex vitro* dan keberhasilan aklimatisasi planlet.

Pengaruh Konsentrasi BA terhadap Pembentukan Tunas

Tanaman induk *S. trifasciata* 'Lorentii' untuk sumber eksplan dipelihara di rumah kaca. Bahan tanaman yang digunakan sebagai eksplan diambil dari daun termuda yang sudah berkembang penuh yang dipotong setengah bagian daun bagian atas. Sterilisasi eksplan diawali dengan mencuci potongan daun dengan air mengalir selama 20 menit. Daun dipotong-potong menjadi 3-4 bagian (\pm 3-4 cm), dikocok dalam larutan NaOCl 0.26% selama 15 menit, dan dibilas dengan air keran. Selanjutnya sterilisasi dilakukan di dalam laminar air flow cabinet (LAFC), yaitu merendam-kocok potongan daun dalam NaOCl 0.53% selama 15 menit lalu dibilas dengan akuades steril tiga kali. Daun lalu dipotong dengan ukuran 0.8 cm x 0.8 cm untuk digunakan sebagai eksplan.

Media yang digunakan adalah media inisiasi kalus dan media perlakuan penginduksi tunas. Keduanya menggunakan garam-garam makro dan mikro MS (Murashige dan Skoog, 1962) dengan 30 g L⁻¹ sukrosa, 0.1 mg L⁻¹ thiamin-HCl, 0.5 mg L⁻¹ piridoksin-HCl, 0.5 mg L⁻¹ asam nikotinat, 2 mg L⁻¹ glisin dan 100 mg L⁻¹ mio-inositol. Media inisiasi kalus adalah MS dengan 0.25 mg L⁻¹ 2,4-D. Media perlakuan adalah media MS yang ditambah dengan berbagai konsentrasi BA (0, 0.5, 1, 2, dan 5 mg L⁻¹). Media diatur pH-nya menjadi 5.8 sebelum ditambahkan 7 g L⁻¹ bubuk agar. Media dididihkan, lalu dimasukkan ke dalam botol-botol kultur 250 mL, sebanyak 30 mL per botol. Botol yang berisi media ditutup dengan plastik bening tahan panas,

diikat dengan karet, dan disterilisasi dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121 °C dan tekanan 1.2 kgf cm⁻².

Eksplan daun (0.8 cm x 0.8 cm) ditanam pada media inisiasi yaitu media MS+2,4 D 0.25 mg L⁻¹ dan diinkubasi selama satu minggu dalam ruang kultur, lalu disubkultur ke media MS tanpa ZPT dan diinkubasi selama satu minggu. Selanjutnya eksplan disubkultur ke media perlakuan, yaitu media MS dengan beberapa konsentrasi BA (0, 0.5, 1, 2 dan 5 mg L⁻¹). Subkultur ke media yang sama dilakukan setelah 4 minggu. Kultur diinkubasi di ruang kultur dengan penerangan lampu fluoresens 1,500 lux secara terus-menerus dan suhu 24-28 °C.

Percobaan disusun berdasarkan rancangan acak lengkap satu faktor, yaitu konsentrasi BA dengan lima taraf (0, 0.5, 1, 2 dan 5 mg L⁻¹). Masing-masing perlakuan diulang lima kali. Satu unit percobaan terdiri atas tiga botol kultur dengan satu eksplan per botol. Pengamatan dilakukan pada saat kultur berumur 3 dan 4 bulan setelah tanam (BST). Variabel yang diamati pada 3 BST meliputi jumlah mata tunas, jumlah tunas dan panjang tunas, sedangkan pada umur 4 BST yang diamati adalah jumlah tunas dan panjang tunas. Mata tunas adalah struktur bermeristem yang panjangnya < 0.5 cm, sedangkan tunas adalah struktur bermeristem yang panjangnya ≥ 0.5 cm. Rata-rata panjang tunas dihitung secara aseptik di dalam LAFC dengan alat ukur *milimeter block* yang diletakkan di bawah cawan petri. Tunas diukur dari pangkal sampai ujung daun. Data dianalisis ragam dan jika uji F nyata maka dilakukan uji lanjut dengan uji BNT pada taraf $\alpha = 5\%$.

Pengaruh IBA dan Media Tanam terhadap Pengakaran Ex Vitro, Aklimatisasi, dan Pertumbuhan Planlet

Kultur yang telah membentuk tunas dari Percobaan 1 dipindahkan ke media MS tanpa ZPT + 2 g L⁻¹ arang aktif sampai didapatkan tunas-tunas dalam jumlah mencukupi untuk bahan Percobaan 2. Planlet yang digunakan berukuran 4-5 cm dengan 2-3 daun dan berakar. Kultur tunas *Sansevieria* dikeluarkan dari ruang kultur selama kurang lebih 2 minggu untuk tujuan *hardening off in vitro* pada kondisi suhu kamar. Setelah 2 minggu, tunas mikro dikeluarkan dari botol, lalu dicuci dengan air mengalir sampai bibit benar-benar bersih dari media agar. Selanjutnya, tunas mikro direndam dalam larutan 2 g L⁻¹ fungisida Mancozeb 80% selama 5 menit, lalu dikeringanginkan di atas kertas. Akar yang terbentuk dalam kultur *in vitro* dipotong. Bagian dasar tunas lalu diolesi dengan pasta bubuk IBA dengan konsentrasi sesuai perlakuan.

Tunas-tunas mikro *Sansevieria*, yang akar-akarnya sudah dipotong, ditanam di dua campuran media aklimatisasi dan dipelihara di rumah kaca yang dinaungi paranet dengan intensitas sekitar 25% dari cahaya penuh. Setelah 1 minggu, bibit tidak lagi diberi naungan paranet. Intensitas cahaya rata-rata harian di rumah kaca adalah 5,166 lux, sedangkan kelembaban nisbi rata-rata harian 80%. Setelah diaklimatisasi selama 2 bulan, bibit dipindahkan ke rumah kaca yang berintensitas cahaya lebih tinggi dan kelembaban nisbi lebih rendah. Intensitas cahaya rata-rata di rumah kaca 9,990 lux dan kelembaban nisbi rata-rata 77.3%.

Penyiraman dilakukan sekali sehari. Pemupukan dengan 2 g L⁻¹ NPK (14-12-14) dilakukan seminggu sekali dengan dosis 5 mL tanaman⁻¹. Pengendalian hama dan penyakit dilakukan setiap dua minggu dengan menyemprotkan larutan 2 g L⁻¹ Mancozeb 80% dan 2 g L⁻¹ Methidathion 25%. Pengamatan dilakukan setelah tanaman berumur 2 bulan sejak diaklimatisasi untuk variabel persen tanaman hidup, tinggi tanaman, jumlah daun, serta jumlah dan panjang akar.

Percobaan 2 disusun berdasarkan rancangan acak lengkap dua faktor dengan 3 ulangan. Faktor pertama merupakan konsentrasi IBA (b/b) dengan tiga taraf (0, 1,000 dan 2,000 ppm), sedangkan faktor kedua merupakan jenis media tanam dengan dua taraf, yaitu campuran pasir dan arang sekam (1:1, v/v) dan campuran pasir dan kompos (1:1, v/v). Satu satuan percobaan terdiri atas sepuluh tanaman dengan satu tanaman per pot (diameter pot = 8 cm). Data dianalisis menggunakan analisis ragam dan jika berpengaruh nyata maka dilakukan uji lanjut dengan uji BNT pada taraf $\alpha = 5\%$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Konsentrasi BA terhadap Pembentukan Tunas

Secara umum respon pertama yang teramati pada eksplan potongan daun *S. trifasciata* 'Lorentii' ketika dikulturkan selama dua minggu di media MS + 2,4-D adalah terjadinya pembesaran eksplan. Setelah tiga hingga lima hari setelah dipindahkan ke media MS0, pembentukan kalus pada permukaan potongan eksplan mulai teramati. Keragaan eksplan berkalus pada akhir minggu ke-2 di media MS0 disajikan pada Gambar 1.

Selama tahap perkembangannya, eksplan berkalus yang dikulturkan di semua media perlakuan BA membentuk bintik kecil (meristemoid) berwarna hijau yang teramati pada minggu ke 1-2 pada periode pengkulturan pertama. Saat minggu ke 3-4 di media perlakuan, bintik kecil menjadi bakal tunas atau mata tunas. Setelah disubkultur ke media perlakuan yang sama untuk periode pengkulturan ke-2, mata tunas berkembang menjadi lebih besar pada minggu ke-6



Gambar 1. Kultur potongan daun *Sansevieria trifasciata* 'Lorentii' di media MS + 0.25 mg L⁻¹ 2,4-D selama 2 minggu lalu dipindahkan ke media MS0 selama 2 minggu

dan pada minggu ke-8 (pada 3 BST) beberapa mata tunas tumbuh memanjang dan menjadi tunas adventif.

Saat umur 3 BST, secara umum peningkatan konsentrasi BA sampai 2 dan 5 mg L⁻¹ menyebabkan peningkatan jumlah mata tunas pada eksplan (Tabel 1). Jumlah mata tunas per eksplan terbanyak ditemukan pada media 5 mg L⁻¹ BA dengan rata-rata sebesar 14.1 mata tunas, tidak berbeda nyata dengan yang dihasilkan di media dengan 2 mg L⁻¹ BA, yaitu sebesar 13.3 mata tunas per eksplan. Jumlah mata tunas yang terbentuk pada media BA lainnya (0, 0.5, dan 1 mg L⁻¹ BA) nyata lebih rendah dibandingkan pada perlakuan BA 2 dan 5 mg L⁻¹.

Tabel 1 juga menunjukkan bahwa pada umur 3 BST peningkatan konsentrasi BA dari 0.5 hingga 2 mg L⁻¹ menyebabkan peningkatan jumlah tunas, yaitu dari 2.2 menjadi 4.5 tunas per eksplan. Peningkatan konsentrasi BA menjadi 5 mg L⁻¹ tidak diikuti dengan peningkatan jumlah tunas per eksplan. Setelah dilakukan subkultur ke media baru dengan konsentrasi BA yang sama, pada umur 4 BST jumlah tunas yang teramati pada masing-masing perlakuan BA meningkat drastis. Namun demikian, tren peningkatan jumlah tunas akibat meningkatnya konsentrasi BA dari 0.5 hingga 2 mg L⁻¹ tetap sama. Perlakuan tanpa BA menunjukkan rata-rata jumlah tunas yang terbentuk hanya 0.9 tunas per eksplan. Pemberian BA pada level terendah, yaitu 0.5 mg L⁻¹ menyebabkan peningkatan jumlah tunas secara signifikan, yaitu menjadi 7.1 tunas per eksplan. Peningkatan konsentrasi BA dari 0.5 menjadi 2 mg L⁻¹ meningkatkan jumlah tunas yang terbentuk menjadi 11.1 tunas per eksplan. Peningkatan konsentrasi BA lebih lanjut menjadi 5 mg L⁻¹ tidak diikuti dengan peningkatan jumlah tunas per eksplan (8.8 tunas per eksplan). Berdasarkan semua konsentrasi BA yang dicobakan, konsentrasi BA 2 mg L⁻¹ menghasilkan jumlah tunas terbanyak, yaitu 11.1 tunas per eksplan.

Hasil pengamatan panjang tunas menunjukkan bahwa rata-rata panjang tunas yang terbentuk pada umur 3 BST maupun 4 BST tidak berbeda secara signifikan, yaitu dari 1.1 cm hingga 1.7 cm. Representasi kultur *S. trifasciata* 'Lorentii' pada media MS0 dan MS + 2 mg L⁻¹ BA disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Representasi regenerasi mata tunas dan tunas *S. trifasciata* 'Lorentii' di media MS0 (kiri) dan MS + 2 mg L⁻¹ BA (kanan) pada umur 4 BST

Pengaruh IBA dan Media Tanam terhadap Pengakaran Ex Vitro, Aklimatisasi, dan Pertumbuhan Planlet

Hasil analisis ragam dari data Percobaan 2 menunjukkan bahwa pada umur 2 bulan setelah dikeluarkan dari botol, baik pemberian IBA maupun campuran media aklimatisasi tidak berpengaruh terhadap persentase planlet yang hidup, tinggi tanaman dan jumlah daun yang terbentuk. Namun demikian, konsentrasi IBA dan campuran media aklimatisasi yang digunakan berpengaruh terhadap jumlah akar sekunder, panjang akar dan bobot basah akar. Tidak terdapat interaksi antara kedua faktor tersebut dalam mempengaruhi semua variabel yang diamati. Saat umur 2 bulan di lingkungan eksternal, persentase tanaman yang hidup pada semua perlakuan sama, yaitu 96%, sedangkan tingginya antara 9.2-9.5 cm dan jumlah daunnya antara 4.4-5.2 helai.

Tabel 2 menunjukkan bahwa pemberian IBA 1,000 ppm dalam bentuk pasta yang dioleskan di dasar tunas mikro *Sansevieria* tidak berpengaruh terhadap jumlah akar sekunder, panjang akar dan bobot basah akar, tetapi aplikasi IBA 2,000 ppm dapat meningkatkan nilai rata-rata ketiga variabel tersebut. Hal ini berarti pengakaran tunas *Sansevieria ex vitro* secara umum lebih baik dengan aplikasi IBA 2,000 ppm dibandingkan dengan tanpa IBA. Walau demikian, keberhasilan aklimatisasi tidak dipengaruhi oleh

Tabel 1. Pengaruh konsentrasi BA terhadap jumlah mata tunas, jumlah tunas dan panjang tunas pada umur 3 BST dan jumlah tunas dan panjang tunas pada umur 4 BST kultur *in vitro* *S. trifasciata* 'Lorentii'

Konsentrasi BA (mg L ⁻¹)	Jumlah mata tunas pada 3 BST	Jumlah tunas (cm) pada 3 BST	Panjang tunas (cm) pada 3 BST	Jumlah tunas pada umur 4 BST	Panjang tunas (cm) pada 4 BST
0.0	3.2d	0.1c	0.1b	0.9c	0.6b
0.5	8.3c	2.2b	1.1a	7.1b	1.7a
1.0	10.8b	3.1ab	1.5a	9.1ab	1.4a
2.0	13.3a	4.5a	1.5a	11.1a	1.4a
5.0	14.1a	3.5ab	1.1a	8.8ab	1.1ab
BNT 0.05	1.87	1.49	0.7	3.9	0.68

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT pada taraf $\alpha = 5\%$

Tabel 2. Pengaruh konsentrasi IBA terhadap pengakaran *ex vitro* planlet *S. trifasciata* 'Lorentii' pada umur 2 bulan di lingkungan eksternal

Konsentrasi IBA (ppm)	Jumlah akar sekunder	Panjang akar (cm)	Bobot basah akar (g)
0	7.7b	4.2b	0.05b
1,000	15.8ab	5.6ab	0.08b
2,000	19.7a	7.6a	0.15a
BNT 0.05	8.7	2.2	0.04

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT pada taraf $\alpha = 5\%$

aplikasi IBA 2,000 ppm terlihat dari persentase tanaman hidup yang sama tingginya, yaitu 96%. Pertumbuhan tanaman yang ditunjukkan oleh ukuran tanaman juga tidak berbeda, yaitu tinggi tanaman dan jumlah daun baik pada tunas yang diberi IBA maupun tanpa IBA.

Fenomena yang sama terjadi dengan komposisi campuran media yang digunakan untuk aklimatisasi. Tabel 3 menunjukkan bahwa media aklimatisasi berupa campuran pasir : kompos (1:1, v/v) secara signifikan menghasilkan rata-rata jumlah akar sekunder, panjang akar dan bobot basah akar yang lebih tinggi dibandingkan campuran pasir : arang sekam (1:1, v/v). Namun demikian, hal ini tidak mempengaruhi persentase hidup planlet atau pertumbuhan tanaman. Keragaan tanaman yang diaklimatisasi di kedua campuran media tersebut dengan pemberian IBA 2,000 ppm (Gambar 3A dan 3B) tampak sama.

Berdasarkan hasil pengamatan pada pertumbuhan dan perkembangan eksplan *S. trifasciata* 'Lorentii' hingga terbentuknya mata tunas dan tunas, dapat dikatakan bahwa regenerasi tanaman dari eksplan daun pada percobaan ini adalah via organogenesis tidak langsung. Hal ini ditunjukkan oleh terbentuknya kalus pada permukaan potongan eksplan setelah eksplan dikulturkan selama satu bulan, yaitu dua minggu di media MS + 2,4-D dan selama dua minggu lagi di media MS0. Auksin telah dilaporkan banyak berperan sebagai penginduksi kalus dari eksplan. Valenzuela-Sánchez *et al.* (2006) melaporkan bahwa eksplan potongan jaringan meristem *Agave tequiliana* (famili Agavaceae) membentuk kalus dan menunjukkan pertumbuhan kalus terbaik pada media MS+ naphthaleneacetic acid (NAA). Sebelumnya, Blazich dan Novitzky (1984) juga mendapatkan bahwa eksplan daun *S. trifasciata* membentuk kalus ketika dikulturkan di media MS + 2,4-D diikuti pemindahan kultur ke media MS0. Selanjutnya, eksplan potongan daun *S.*



Gambar 3. Keragaan tanaman *Sansevieria* yang sudah diaklimatisasi selama 2 bulan dengan campuran media pasir: arang sekam (A) dan pasir:kompos (B)

cylindrica membentuk kalus setelah dikulturkan di media MS yang mengandung auksin indole-3-butyric acid (IBA) atau membentuk nodul di media MS + 2,4-D atau 2,4,5-T (Shahzad *et al.*, 2009). Ali *et al.* (2008) dan Hapsoro *et al.* (2012) melaporkan bahwa eksplan potongan gulungan daun pucuk tebu membentuk kalus setelah diinduksi di media MS + 3 mg L⁻¹ 2,4-D.

Setelah terbentuk kalus pada eksplan, pemindahan kultur ke media MS0 atau MS + BA diikuti oleh pembentukan mata tunas dan tunas. Percobaan ini memperlihatkan pengkulturan eksplan berkalus di media MS0 dapat menghasilkan tunas, tetapi jumlahnya sangat sedikit, yaitu rata-rata 0.9 tunas per eksplan. Penambahan BA ke dalam media mulai dari 0.5 mg L⁻¹ secara signifikan meningkatkan jumlah tunas yang terbentuk menjadi 7.1 tunas per eksplan, dan peningkatan konsentrasi BA dari 0.5 mg L⁻¹ menjadi 2 mg L⁻¹ meningkatkan jumlah tunas menjadi 11.1 tunas per eksplan. Akan tetapi, peningkatan BA menjadi 5 mg L⁻¹ tidak diikuti oleh peningkatan jumlah tunas. Menurut Hartmann *et al.* (2011) sitokinin diperlukan

Tabel 3. Pengaruh campuran media aklimatisasi terhadap pengakaran *ex vitro* planlet *S. trifasciata* 'Lorentii' pada 2 bulan di lingkungan eksternal

Campuran media	Jumlah akar	Panjang akar (cm)	Bobot basah akar (g)
Pasir : arang sekam	11.1b	4.6b	0.06b
Pasir : kompos	17.4a	7.0a	0.12a
BNT 0.05	5.8	1.8	0.03

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT pada taraf $\alpha = 5\%$

untuk menginduksi tunas dari eksplan, namun konsentrasi efektif dari suatu jenis sitokinin tergantung pada genotipe tanaman. Penelitian sebelumnya oleh Blazich dan Novitzky (1984) mendapatkan bahwa kinetin dapat menginduksi tunas pada eksplan daun *S.trifasciata* 'Lorentii'. Kinetin dan BA merupakan sitokinin turunan adenin dan keduanya dapat menginduksi terbentuknya tunas adventif dari eksplan potongan daun berkalus pada *S. trifasciata* 'Lorentii'. Eksplan potongan daun *S. cylindrica* yang sudah membentuk kalus di media + 2,4-D dapat diinduksi untuk membentuk tunas adventif terbanyak, yaitu 17.6 tunas per eksplan di media MS dengan kombinasi 1.1 mg L⁻¹ BA+0.4 mg L⁻¹ NAA (Shahzad *et al.*, 2009).

Media yang paling baik untuk regenerasi tunas adventif *Aloe arborescens* (famili Liliaceae) adalah MS + 5 mg L⁻¹ BA + 1 mg L⁻¹ ancymidol (Velcheva *et al.*, 2005). Purwito *et al.* (2005) melaporkan bahwa media MS + 1 mg L⁻¹ BA efektif untuk merangsang pembentukan tunas pada pembiakan *in vitro* *Ruscus hypophyllum* (famili Liliaceae). Perbedaan respons eksplan terhadap sitokinin dan auksin dalam meregenerasi tunas tergantung pada level hormon endogen yang terkandung dalam eksplan, yang bervariasi sesuai dengan spesies, bagian tanaman yang digunakan sebagai eksplan dan fase pertumbuhan tanaman sumber eksplan (Sriskandarajah *et al.*, 2006).

Keberhasilan dan efisiensi perbanyak *in vitro* tergantung pada persentase berakar dan keberhasilan aklimatisasi planlet ke lingkungan eksternal (Martin *et al.*, 2003). Pengakaran *ex vitro* umumnya dilakukan dengan memperlakukan tunas mikro dengan auksin, lalu menanamnya di media aklimatisasi di rumah kaca dengan kelembaban tinggi dan intensitas cahaya rendah (Hartmann *et al.*, 2011). Pengakaran *ex vitro* mempunyai banyak kelebihan karena dapat menghemat tenaga dan biaya produksi (Shekafandeh, 2007; Leva, 2011; Pandey *et al.*, 2011). Selain itu, akar yang terbentuk dalam kondisi *ex vitro* mempunyai morfologi yang lebih baik, misalnya mempunyai percabangan akar yang lebih banyak dengan rambut-rambut akar, dan mempunyai turgiditas lebih tinggi dibandingkan dengan akar yang terbentuk *in vitro* (Barry-Etienne *et al.*, 2002). Hasil percobaan Gonçalves dan Romano (2007) menunjukkan bahwa pengakaran *ex vitro* *Drosophyllum lusitanicum* meningkatkan daya hidup planlet pada waktu diaklimatisasi. Keberhasilan pengakaran *ex vitro* pada aklimatisasi planlet telah dilaporkan oleh beberapa peneliti, yaitu 95% pada *Mentha piperita* L. (Sunandakumari *et al.*, 2004), 95% pada jeruk (Rathore *et al.*, 2007), dan 86.3% pada *Malus zumi* (Xu *et al.*, 2008).

Tunas mikro *Sansevieria* dalam penelitian ini dapat diaklimatisasi dengan keberhasilan tinggi (96%) melalui pengakaran *ex vitro* baik tanpa perlakuan auksin maupun dengan aplikasi IBA. IBA dengan konsentrasi 2,000 ppm dapat meningkatkan jumlah akar sekunder, panjang dan bobot akar, tetapi tidak berpengaruh terhadap keberhasilan aklimatisasi, tinggi tanaman dan jumlah daun pada planlet. Hal ini mungkin karena *Sansevieria* tergolong tanaman yang mudah berakar, sehingga tanpa aplikasi auksin pun sudah

dapat berakar dan teraklimatisasi dengan keberhasilan tinggi. Tanaman yang mudah berakar mengandung semua senyawa endogen yang diperlukan untuk inisiasi akar (*rooting morphogens*) dan auksin dalam jumlah mencukupi, sehingga jika setek ditanam di media yang sesuai, setek akan berakar dengan cepat dan mudah (Hartmann *et al.*, 2011). Aplikasi auksin pada tanaman yang mudah berakar ini mungkin meningkatkan pengakaran, namun umumnya pemberian auksin tidak esensial. Tunas-tunas mikro *Sansevieria* dalam penelitian ini yang diakarkan secara *ex vitro* tanpa perlakuan IBA dapat berakar dan teraklimatisasi dengan keberhasilan tinggi, yaitu 96%. Oleh karena itu, aklimatisasi dengan pengakaran *ex vitro* layak dipertimbangkan sebagai cara yang mudah, murah, dan efisien dalam produksi bibit tanaman *Sansevieria* melalui kultur jaringan.

KESIMPULAN

Regenerasi tunas dari eksplan daun *S. trifasciata* pada percobaan ini adalah melalui organogenesis tidak langsung, yaitu melalui terbentuknya kalus. Penambahan 2 mg L⁻¹ BA ke dalam media induksi tunas menghasilkan jumlah tunas terbanyak yaitu 4.5 tunas pada umur 3 bulan dan 11.1 tunas per eksplan pada umur 4 bulan. Pemberian 2,000 ppm IBA pada dasar tunas dan penggunaan media arang sekam: kompos (1:1) untuk pengakaran *ex vitro* menghasilkan jumlah akar sekunder, panjang dan bobot akar terbaik, tetapi tidak berpengaruh terhadap keberhasilan aklimatisasi, tinggi tanaman dan jumlah daun pada planlet. Planlet *Sansevieria* pada semua perlakuan yang dicobakan teraklimatisasi dengan keberhasilan tinggi (96%).

DAFTAR PUSTAKA

- Ali, A.S., Naz, F.A. Siddiqui, J. Iqbal. 2008. Rapid clonal multiplication of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) through callogenesis and organogenesis. Pak. J. Bot. 4:123-128.
- Anis, M., A. Shahzad. 2005. Micropropagation of *Sansevieria cylindrica* Bojer Ex Hook through leaf disc culture. Propag. Orn. Plants 5:119-123.
- Barry-Etienne, D., B. Bertrand, N. Vasquez, H. Etienne. 2002. Comparison of somatic embryogenesis-derived coffee (*Coffea arabica* L.) plantlets regenerated *in vitro* or *ex vitro*: morphological, mineral and water characteristics. Ann. Bot. 90:77-85.
- Blazich, A.F., R.T. Novitzky. 1984. In vitro propagation of *Sansevieria trifasciata* cv. Lorentii. HortScience 19:122-123.
- Gonçalves, S., A. Romano. 2007. Ex vitro rooting of *Drosophyllum lusitanicum* micropropagated shoots improves acclimatization. Acta Hort. 748:127-131.

- Hapsoro, D., A.P. Febrianie, Yusnita. 2012. In vitro shoot formation on sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) callus as affected by benzyladenine concentrations. J. Agron. Indonesia 40:56-61.
- Hartmann, H.T., D.E. Kester, F.T Davies, Jr, R.L. Geneve. 2011. Plant Propagation: Principles and Practices. 7th ed. Prentice Hall, New Jersey, USA.
- Kalimuthu, K., M. Saravanakumar, R. Senthilkumar. 2007. In vitro micropropagation of *Musa sapientum* L. (Cavendish Dwarf). Afr. J. Biotechnol. 6:1106-1109.
- Leva, A. 2011. Innovative protocol for ex vitro rooting on olive propagation. Cent. Eur. J. Biol. 6:352-358.
- Martin, KP., M.R. Beena, D. Joseph. 2003. High frequency axillary bud multiplication and ex vitro rooting of *Wedelia chinensis* (Osbeck) Merr. – a medicinal plant. Indian J. Exp. Biol. 41:262-266.
- Murashige, T., F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15:473-497.
- Pandey, R.N., J. Rastogi, M.L. Sharma, R.K. Singh. 2011. Technologies for cost reduction in sugarcane micropropagation. Afr. J. Biotechnol. 10:7814-7819.
- Purkayastha, J., T. Sugla, A. Paul, S. Solleti, L. Sahoo. 2008. Rapid in vitro multiplication and plant regeneration from nodal explants of *Andrographis paniculata*: a valuable medicinal plant. In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant 44:442-447.
- Purwito, A., P. Muklisa, A. Maharijaya. 2005. Perbanyakan ruskus (*Ruscus hypophyllum* L.) secara in vitro. Bul. Agron. 33:39-45.
- Rathore, J.S., M.S. Rathore, M. Singh, R.P. Singh, N.S. Shekhawat. 2007. Micropropagation of mature tree of *Citrus limon*. Indian J. Biotechnol. 6:239-244.
- Shahzad, A., N. Ahmad, M.A. Rather, M.K. Husain, M. Anis. 2009. Improved shoot regeneration system through leaf derived callus and nodule culture of *Sansevieria cylindrica*. Biol. Plantarum 53:745-749.
- Shekafandeh, A. 2007. Effect of different growth regulators and sucrose of carbohydrates on in and ex vitro rooting of Iranian myrtle. Int. J. Agric. Res. 2:152-158.
- Sriskandarajah, S., E. Prinsen, V. Motyka, P.I. Dobrev, M. Serek. 2006. Regenerative capacity of cacti *Schlumbergera* and *Rhipsalidopsis* in relation to endogenous phytohormones, cytokinin oxidases/dehydrogenase, and peroxidase activities. J. Plant Growth Regul. 25:79-88.
- Sumaryono, I. Riyadi. 2011. Ex vitro rooting of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) plantlets derived from tissue culture. Indonesian J. Ag. Sci 12:57-62.
- Sunandakumari, C., K.P. Martin., M. Chithra, S. Sini, P.V. Madhusoodanan. 2004. Rapid axillary bud proliferation and ex vitro rooting of herbal spice, *Mentha piperita* L. Indian J. Biotechnol. 3:108-112.
- Valenzuela-Sánchez, K.A, R.E. Juárez-Hernández, A. Cruz-Hernández, V. Olalde-Portugal, M.E.Valverde, O. Paredes-Lopez. 2006. Plant regeneration of *Agave tequiliana* by indirect organogenesis. In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant 42:336-340.
- Velcheva, M., Z. Faltin, A. Vardi, Y. Eshdat, A. Perl. 2005. Regeneration of *Aloe arborescens* via somatic organogenesis from young inflorescences. Plant Cell Tissue Organ Cult. 83:293-301.
- Wolverton, B.C., A. Johnson, K. Bounds. 1988. Interior Landscape Plants for Indoor Air Pollution Abatement. National Aeronautics and Space Administration (NASA), Mississippi, USA.
- Xu, J., Y. Wang, Y. Zhang. 2008. Rapid in vitro multiplication and ex vitro rooting of *Malus zumi* (Matsumura) Rehd. Acta Physiol. Plant. 30:129-132.
- Yusnita, W. Pungkastiani, D. Hapsoro. 2011. In vitro organogenesis of two *Sansevieria* cultivars on different concentrations of benzyladenine (BA). Agrivita 33:147-153.