Jurnal Littri 13(4), Desember 2007. Hlm. 142 - 146
JURNAL LITTRI VOL. 13 NO. 4, DESEMBER 2007 : 142 - 146
ISSN 0853-8212

INDUKSI DAN REGENERASI KALUS KELADI TIKUS (*Typonium flagelliforme.* Lodd.) SECARA *IN VITRO*

SITTI FATIMAH SYAHID dan NATALINI NOVA KRISTINA

Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik
Jalan Tentara Pelajar No. 3, Bogor 16111

ABSTRAK

Keladi tikus umumnya diperbanyak secara vegetatif sehingga ragam genetiknya sempit. Penelitian peningkatan keragaman genetik pada keladi tikus melalui kultur *in vitro* telah dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan, Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik (Balittro) Bogor pada bulan April sampai Desember 2005. Bahan tanaman yang digunakan adalah daun steril keladi tikus *in vitro*. Media dasar yang digunakan adalah Murashige and Skoog (MS) yang diperkaya vitamin dari group B. Sebagai sumber energi digunakan sukrosa sebanyak 30 g/l. Penelitian terdiri dari dua tahap yaitu induksi dan regenerasi kalus. Perlakuan yang diuji pada tahap I adalah beberapa taraf konsentrasi auksin (2,4-D) secara tunggal maupun kombinasi dengan sitokinin (kinetin) terhadap induksi kalus yaitu : 2,4-D 0,1 mg/l; 2,4-D 0,5 mg/l; 2,4-D 1,0 mg/l; 2,4-D 0,1 + kinetin 0,1 mg/l; 2,4-D 0,5 mg/l + kinetin 0,1 mg/l; 2,4-D 1.0 mg/l + kinetin 0,1 mg/l; 2,4-D 0,1 mg/l + kinetin 0,3 mg/l; 2,4-D 0,5 mg/l +kinetin 0,3 mg/l dan 2,4-D 1,0 mg/l + kinetin 0,3 mg/l. Tahap II adalah beberapa taraf konsentrasi benzyl adenin untuk regenerasi kalus. Penelitian disusun menggunakan rancangan acak lengkap dengan pola faktorial dan lima ulangan, dan setiap ulangan terdiri dari satu eksplan. Faktor pertama adalah asal kalus dan faktor kedua adalah beberapa taraf konsentrasi BA yaitu : BA 0,1 mg/l ; BA 0,3 mg/l dan BA 0,5 mg/l. Parameter yang diamati adalah waktu inisiasi kalus, struktur dan warna kalus, jumlah tunas serta penampilan kultur secara visual. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kalus asal eksplan daun dapat diinduksi pada perlakuan 2,4-D 1,0 mg/l + kinetin 0,1 mg/l dan 2,4-D 1,0 mg/l + kinetin 0,3 mg/l dengan waktu inisiasi 8 sampai 10 minggu setelah perlakuan. Regenerasi kalus terbaik diperoleh pada medium 2,4-D 1,0 mg/l + kinetin 0,3 mg/l mengandung BA 0,3 mg/l dengan rata-rata tunas dan daun yang dihasilkan sebanyak 13,2 tunas dan 4,4 daun.

Kata kunci : Keladi tikus, *Typonium flagelliforme* Lodd., induksi, regenerasi kalus, *in vitro*

ABSTRACT

Induction and regeneration of Rodent tuber calli through in vitro *culture*

Rodent tuber plant (*Typonium flagelliforme* Lodd) is commonly propagated vegetatively, the repro its genetic variation is narrow. A research to increase the genetic variability of the plant was conducted in Tissue Culture Laboratory of the Indonesian Medicinal and Aromatic Research Institute, Bogor from April to December 2005. The leaf of Rodent tuber *in vitro* used as an explants. Murashige and Skoog (MS) medium used as basic medium, supplemented with vitamin from B group, sucrose 30 g/l was added into the medium as carbon source. The research consist of two steps : 1) calli induction and 2) calli regeneration. The treatment tested in first step : 2.4-D 0.1 mg/l; 2.4-D 0.5 mg/l; 2.4-D 1,0 mg/l; 2.4-D 0.1 + kinetin 0.1 mg/l; 2.4-D 0.5 mg/l + kinetin 0.1 mg/l; 2.4-D 1.0 mg/l + kinetin 0,1 mg/l; 2.4-D 0.1 mg/l + kinetin 0.3 mg/l; 2.4-D 0.5 mg/l + kinetin 0.3 mg/l and 2.4-D 1.0 mg/l + kinetin 0.3 mg/l. In the second steps, several concentration of BA were tested i.e: BA 0,1 mg/l ; BA 0,3 mg/l and BA 0,5 mg/l. The experiment was arranged in completely randomized design with factorial pattern. Each treatment consist of five replications. The parameters observed were time of calli initiation, texture, colour of calli and number of shoot and leaves in regeneration. The result showed that calli can be induced on 2.4-D 1.0 mg/l + kinetin 0.1 mg/l and 2.4-D 1.0 mg/l + kinetin 0.3 mg/l, eight to ten weeks after culture. The best medium for shoots regeneration contains 2.4-D 1.0 mg/l + kinetin 0.3 mg/l with 0.3 mg/l BA, with mean result of 13.2 shoots and 4.4 leaves.

Key words : Rodent tuber, *Typonium flagelliforme* Lodd. bl , induction, regeneration, calli, *in vitro*

PENDAHULUAN

Keladi tikus *(Typonium flagelliforme* Lodd) bl. merupakan salah satu jenis tanaman obat yang bermanfaat dalam menyembuhkan penyakit kanker di antaranya kanker payudara dan kanker rahim (HEYNE, 1987), merupakan tanaman asli Indonesia yang banyak ditemui di Pulau Jawa dan tumbuh dengan baik pada ketinggian 1 – 300 m di atas permukaan laut (ESSAI, 1986).

Kandungan kimia pada keladi tikus di antaranya adalah alkaloid, saponin, steroid dan glikosida (SYAHID, 2007), namun belum diketahui bahan aktif yang spesifik pada keladi tikus yang berperan dalam menyembuhkan penyakit kanker.

Keladi tikus umumnya diperbanyak secara vegetatif dengan pemisahan anakan/bonggol (ESSAI, 1986). Perbanyakan secara vegetatif akan mengurangi pembentukan genotipe-genotipe baru. Walaupun menghasilkan biji, persilangan tampaknya jarang terjadi, sehingga keragaman dalam jenis cukup sempit. Upaya eksplorasi ke berbagai daerah di Indonesia belum mampu meningkatkan ragam dalam jenis. Sampai saat ini koleksi tanaman baru memiliki dua nomor aksesi yang terdapat di Kebun Percobaan Sukamulia, Sukabumi yaitu jenis bertangkai dan berdaun mirip segitiga dan berwarna hijau, dan bertangkai bawah merah hati dan berdaun mirip segitiga dan memiliki kuping (MARTONO *et al*., 2005). Salah satu upaya untuk meningkatkan ragam genetik tanaman adalah pemanfaatan kultur *in vitro* melalui keragaman somaklonal yang dalam hal ini dapat dilakukan melalui kultur proptoplast, kultur sel tunggal maupun kultur kalus (LARKIN dan SCOWCROFT, 1988). Keragaman somaklonal berpeluang sebagai sumber genotipe tanaman baru untuk tujuan pemuliaan. Timbulnya keragaman dapat disebabkan karena perubahan genetik pada tingkat DNA, gen atau kromosom yang terjadi selama proses pengkulturan (PELLOQUIN, 1981). Keragaman ini

dapat ditingkatkan dengan perlakuan mutasi baik secara fisik maupun kimia, terutama bila diaplikasikan pada kultur yang tidak berdeferensiasi (LI dan CHEN, 1983). Banyak dilaporkan bahwa sejumlah mutan dapat dihasilkan dari kalus dan sel bebas seperti tanaman yang tahan terhadap penyakit, toleran salinitas, kekeringan maupun herbisida. Selain itu peluang tanaman hasil keragaman somaklonal berpeluang untuk pengembangan seleksi *in vitro* yang sangat berguna dalam program pemuliaan tanaman (AHLOOWALIA, 1982). Aplikasi teknik ini sudah banyak dilakukan pada berbagai tanaman di antaranya pada tanaman nilam (MARISKA dan SESWITA, 1994); panili (MARISKA *et al*., 1995).

2,4-D merupakan auksin kuat yang sering digunakan secara tunggal untuk menginduksi terbentuknya kalus dari berbagai jaringan tanaman (BHOJWANI dan RAZDAN, 1996). Zat pengatur tumbuh ini juga efektif untuk inisiasi kalus (NAGASAWA dan FINER, 1988). Penggunaan kombinasi antara auksin (2,4-D) dengan sitokinin (Benzyl Adenin ataupun kinetin) akan meningkatkan proses induksi kalus (LITZ *et al*., 1995). Efektifitas zat pengatur tumbuh auksin maupun sitoknin eksogen bergantung pada konsentrasi hormon endogen dalam jaringan tanaman (BHASKARAN dan SMITH, 1990). Selanjutnya sitokinin (Benzyl Adenin) umum digunakan dalam proses regenerasi kultur *in vitro* karena zat pengatur tumbuh ini berfungsi dalam pembelahan sel dan diferensiasi tunas adventif dari kalus (BHOJWANI dan RAZDAN, 1996).

Hasil penelitian pada tanaman hias *Alocasia micholitziana* (Araceae) menunjukkan bahwa induksi kalus dapat diperoleh pada kombinasi auksin (2,4- D) dengan sitokinin (kinetin) dan kalus dapat beregenerasi secara normal pada media yang diperkaya dengan Benzyl Adenin (THAO *et al*., 2003).

Penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh beberapa taraf konsentrasi auksin dan sitokinin dalam induksi dan regenerasi kalus keladi tikus *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan, Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik Bogor dari bulan April sampai Desember 2005.

Bahan tanaman yang digunakan adalah daun steril keladi tikus *in vitro*. Media dasar yang digunakan adalah MURASHIGE dan SKOOG (1962), yang diperkaya vitamin dari group B. Sebagai sumber energi digunakan sukrosa sebanyak 30 g/l dan media dibuat padat dengan penambahan bacto agar sebanyak 8 g/l. pH media diatur hingga mencapai 5,8 dengan penambahan HCL atau NAOH.

Penelitian terdiri dari dua tahap kegiatan, yaitu induksi dan regenerasi kalus.

Induksi Kalus

Daun steril keladi tikus dipotong-potong dengan ukuran 0,5 cm x 0,5 cm, bagian tengah daun dilukai untuk memudahkan penyerapan media. Selanjutnya daun ditempatkan di dalam media perlakuan untuk induksi kalus. Adapun perlakuan yang diuji pada kegiatan ini adalah beberapa taraf konsentrasi auksin (2,4-D) secara tunggal maupun kombinasi dengan sitokinin (kinetin) terhadap induksi kalus yaitu : (1) 2,4-D 0,1 mg/l; 2,4-D 0.5 mg/l; (2) 2,4-D 1,0 mg/l; (3) 2,4-D 0,1 + kinetin 0,1 mg/l; (4) 2,4-D 0,5 mg/l + kinetin 0,1 mg/l; (5) 2,4-D 1,0 mg/l + kinetin 0,1 mg/l; (6) 2,4-D 0,1 mg/l + kinetin 0,3 mg/l; (7) 2,4-D 0,5 mg/l + kinetin 0,3 mg/l, dan (8) 2,4-D 1,0 mg/l + kinetin 0,3 mg/l.

Parameter yang diamati adalah waktu inisiasi kalus, struktur dan warna kalus.

Regenerasi Kalus

Pada kegiatan ini, kalus-kalus yang diperoleh pada perlakuan sebelumnya diregenerasikan untuk membentuk tunas. Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap dalam pola faktorial dengan lima ulangan per perlakuan. Faktor pertama adalah asal kalus dan faktor kedua adalah tiga taraf konsentrasi BA yaitu BA 0,1 mg/l; BA 0,3 mg/l dan BA 0,5 mg/l.

Parameter yang diamati adalah jumlah tunas dan daun serta penampilan kultur secara visual.

Kultur ditempatkan pada rak-rak kultur dengan intensitas cahaya sebesar 1000 lux dengan lama penyinaran 16 jam dalam sehari. Suhu ruang inkubasi sekitar 22° Celcius.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Induksi Kalus

Dari sembilan perlakuan yang diuji, hanya dua perlakuan yang memberikan respon pertumbuhan yaitu 2,4-D 1,0 mg/l + kinetin 0,1 mg/l dan 2,4-D 1,0 mg/l + kinetin 0,3 mg/l, sedangkan tujuh perlakuan lainnya tidak memberikan respon sama sekali (Tabel 1).

Penggunaan 2,4-D secara tunggal pada ketiga taraf konsentrasi tidak mampu memberikan respon terhadap inisiasi kalus. Walaupun 2,4-D umum digunakan untuk induksi kalus, namun pada tanaman keladi tikus, aplikasi

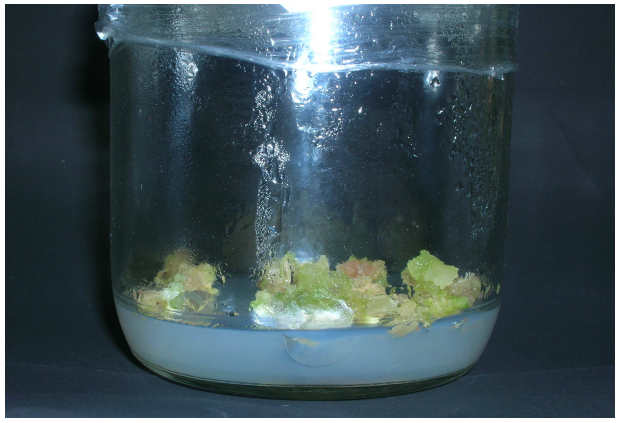
Tabel 1. Pengaruh beberapa taraf auksin dan sitokinin terhadap inisiasi kalus keladi tikus
Table 1. Effect of auxin dan sitokinin concentrations to calli initiationof rodent tuber

Perlakuan (mg/l) *Treatment (mg/l)*	Waktu inisiasi (minggu) *Time of initiation (week)*	Textur kalus *Texture of calli*	Warna kalus *Colour of calli*
2,4-D 0,1	-	-	-
2,4-D 0,5	-	-	-
2,4-D 1,0	-	-	-
2,4-D 0,1 + kinetin 0,1	-	-	-
2,4-D 0,5 + kinetin 0.1	-	-	
2,4-D 1,0 + kinetin 0,1	10	Sebagian remah dan mudah lepas	Hijau muda
2,4-D 0,1 + kinetin 0,3	-	-	-
2,4-D 0,5 + kinetin 0,3	-	-	-
2,4-D 1,0 + kinetin 0,3	8	Remah,padat	Hijau muda kekuningan

zat pengatur tumbuh ini dengan pemberian tunggal belum mampu merangsang sel-sel untuk berdediferensiasi membentuk kalus. Hasil yang sama juga ditemui pada penggunaan 2,4-D secara tunggal dalam induksi kalus *Alocasia mitcolitziana* (Araceae), tidak mampu menginduksi kalus sampai umur 4 bulan setelah perlakuan (THAO *et al*., 2003). Penggunaan konsentrasi 2,4-D 1,0 mg/l yang dikombinasikan dengan kinetin 0,1 mg/l sampai 0,3 mg/l merupakan konsentrasi yang paling optimal untuk menginduksi kalus. Pada konsentrasi 2,4-D rendah (0,1 mg dan 0, 5 mg/l), sel-sel tanaman belum mampu meningkatkan kemampuan jaringan untuk melakukan dediferensiasi membentuk kalus. Terlihat disini bahwa proses induksi kalus untuk keladi tikus membutuhkan pasokan auksin eksogen yang cukup tinggi (1,0 mg/l), karena diduga kandungan auksin endogen dalam jaringan tanaman rendah. Walaupun pemberian auksin secara eksogen cukup tinggi, respon induksi baru bisa terjadi bila adanya kombinasi dengan sitokinin (kinetin) pada konsentrasi rendah (0,1 – 0,3 mg/l).

Walaupun membutuhkan waktu yang cukup lama, namun eksplan daun mampu membentuk kalus. Umumnya, induksi kalus pada kelompok monokotil membutuhkan waktu yang cukup lama (GEIER, 1986). Hal yang sama ditemui pada penelitian ini. Keladi tikus merupakan tanaman dari kelompok monokotil yang membutuhkan waktu yang lama untuk proses induksi kalusnya, sekitar delapan sampai sepuluh minggu. Pada induksi kalus tanaman *Alocasia micholitziana* (Araceae), waktu yang dibutuhkan untuk induksi kalus sekitar tiga minggu dan kalus dapat berkembang dengan baik pada kombinasi perlakuan 2,4-D dengan kinetin, dalam waktu empat bulan (THAO *et al*., 2003). Zat pengatur tumbuh 2,4-D, merupakan auksin kuat yang biasanya digunakan untuk tujuan induksi kalus (BHOJWANI dan RAZDAN, 1996; GEORGE, 1993). Penggunaan senyawa ini bila dikombinasikan dengan sitokinin (BA maupun kinetin) akan memberikan hasil yang lebih maksimal.

Pada penelitian ini diperoleh kalus dengan tekstur sebagian remah, agak mudah lepas dan sebagian remah dan padat (Tabel 1). Hasil yang sama ditemui pada tekstur kalus Alocasia yang sebagian remah, mudah lepas dan sebagian remah dan kompak (THAO *et al*., 2003).



Gambar 1. Kalus keladi tikus yang diperoleh pada perlakuan 2,4-D 1,0 mg/l + kinetin 0,1 mg/l
Figure 1. Calli of rodent tuber grown on the medium containing 2.4-D-1.0 mg/l+ kinetin 0.1 mg/l

Gambar 2. Kalus keladi tikus yang diperoleh pada perlakuan 2,4-D 1,0 mg/l + kinetin 0,3 mg/l
Figure 2. Calli of rodent tuber grown on the medium containing 2.4-D.1.0 mg/l + kinetin 0.3 mg/l

Sebelum diregenerasikan pada media regenerasi, kalus-kalus yang berasal dari kedua perlakuan tersebut di subkultur pada media yang sama dengan media awal. Hasil sub kultur selama tiga minggu menunjukkan hasil pertambahan ukuran kalus dan struktur kalus menjadi lebih remah dengan warna kalus hijau muda sampai hijau muda kekuningan (Tabel 2).

Tabel 2. Pengaruh sub kultur terhadap pertumbuhan kalus, keladi tikus umur tiga minggu setelah perlakuan
Table 2. Effect of sub culture on the growth of calli of rodent tuber, three weeks after treatment

Perlakuan (mg/l) *Treatment (mg/l)*	Tekstur kalus *Calli texture*	Warna kalus *Colour of calli*
2,4-D1,0+ kinetin 0,1	Remah, agak mudah lepas	Hijau muda
2,4-D1,0+ kinetin 0,3	Remah, padat	Hijau muda kekuningan

Pada umur tiga minggu setelah disubkultur, dengan bertambahnya volume kalus dalam botol, juga terlihat bakal akar pada kedua asal kalus yang diuji. Kondisi ini menunjukkan bahwa kalus harus secepatnya dipindahkan ke dalam media regenerasi untuk menginduksi terbentuknya tunas-tunas baru.

Regenerasi Kalus

Pada uji pendahuluan terlihat bahwa kalus yang berasal dari perlakuan 2,4-D 1,0 mg/l + kinetin 0,1 mg/l dan asal 2,4-D 1,0 mg/l + kinetin 0,3 mg/l tidak mampu memberikan respon pertumbuhan pada media kontrol (tanpa Benzyl Adenin/BA). Tanpa diberikannya BA ke dalam media regenerasi, kalus tidak mampu beregenerasi membentuk tunas baru. Sampai umur empat minggu tidak ada pembentukan nodul-nodul bakal tunas dan akhirnya kalus berubah warna menjadi cokelat dan mati. Sedangkan pada semua perlakuan BA, semua kalus mampu beregenerasi dengan baik (Gambar 3). Dapat dikatakan disini bahwa proses regenerasi membutuhkan asupan sitokinin yang dalam hal ini diperoleh dari BA pada berbagai konsentrasi.

Terdapat interaksi antara asal kalus dengan beberapa taraf konsentrasi BA terhadap banyaknya tunas dan daun yang terbentuk, dimana jumlah tunas dan daun terbanyak diperoleh pada perlakuan asal kalus 2,4-D 1,0 mg/l + kinetin 0,3 mg/l kombinasi dengan BA 0,3 mg/l sebanyak 13,2 tunas dan 4,4 helai daun (Tabel 3 dan 4).

Tabel 3. Interaksi antara asal kalus keladi tikus dengan beberapa taraf konsentrasi BA terhadap jumlah tunas, umur empat minggu setelah perlakuan
Table 3. Interaction of calli of rodent tuber and several concentration of Benzyl Adenin on the number of shoots, four weeks after treatment

BA (mg/l) *BA (mg/l)*	Asal kalus *Derived of calli*	
	2,4-D 1,0 + kinetin 0,1	2,4-D 1,0 + kinetin 0,3
0,1	4,2 a A	4,8 a A
0,3	6,8 b A	13,2 a B
0,5	7,0 b A	7,8 b A

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada setiap kolom (A) dan baris (a) tidak berbeda nyata pada uji 5% DMRT
Note : Numbers followed by the same letters on each column (A) and row (a) were not significantly different at 5% DMRT

Tabel 4. Interaksi antara asal kalus keladi tikus dengan beberapa taraf konsentrasi BA terhadap jumlah daun, umur empat minggu setelah perlakuan
Table 4. Interaction of calli of rodent tuber and several concentration of Benzyl Adenin on the number of leaves, four weeks after treatment

BA (mg/l) *BA (mg/l)*	Asal kalus *Derived of calli*	
	2,4-D 1,0 + kinetin 0,1	2,4-D 1,0 + kinetin 0,3
0,1	2,4 a A	2, 4 a A
0,3	2, 2 a A	4, 4 b B
0,5	2, 4 a A	2, 4 a A

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada setiap kolom (A) dan baris (a) tidak berbeda nyata pada uji 5% DMRT
Note : Numbers followed by the same letters on each column (A) and row (a) were not significantly different at 5% DMRT

Kalus yang berasal dari perlakuan 2,4-D 1,0 mg/l + kinetin 0,3 mg/l memberikan respon yang tinggi dalam menghasilkan tunas dan daun baru bila diregenerasikan pada media yang diperkaya BA 0,3 mg/l. Konsentrasi ini merupakan konsentrasi yang optimal karena pada konsentrasi BA rendah 0,1 mg/l maupun konsentrasi tinggi 0,5 mg/l, cenderung menurunkan produksi tunas yang terbentuk. Terdapat hubungan antara proses regenerasi tunas asal kalus dengan kondisi awal pada induksi kalus. Pada kultur kalus keladi tikus membutuhkan konsentrasi auksin 2,4-D 1,0 mg/l yang cukup tinggi, sehingga dalam proses regenerasi hanya dibutuhkan asupan sitokinin rendah yang dalam hal ini diperoleh pada BA 0,3 mg/l. Hasil yang sama ditemui pada penelitian regenerasi kalus dari empat genera Turfgrass yang membutuhkan sitokinin konsentrasi rendah (SALEHI dan KHOSH-KHUI, 2005). Benzyl Adenin (BA) merupakan zat pengatur tumbuh yang berperan dalam merangsang proses pembelahan sel dan diferensiasi tunas adventif dari kalus (BHOJWANI dan RAZDAN, 1996). Pada perlakuan terbaik ini tunas dan daun yang dihasilkan sangat banyak yaitu sekitar 13,2 tunas dan 4,4 helai daun, selama waktu empat minggu (Gambar 3). Hasil yang sama ditemui pada regenerasi kalus Alocasia (Araceae) yang menghasilkan tunas baru terbanyak pada perlakuan BA 0,5 µM yaitu sebanyak 7,8 tunas (THAO *et al*., 2003).

Gambar 3. Regenerasi kalus keladi tikus pada penggunaan media MS + BA 0.3 mg/l (kanan) dan kalus yang tidak mampu beregenerasi pada media tanpa BA (kiri)
Figure 3. Regeneration of calli of rodent tuber on MS+BA0.3mg/l (right)and calli could not regenerated on media without BA (left)

Untuk memperbanyak tunas, tunas yang diperoleh pada perlakuan terbaik diperbanyak pada media yang sama. Dalam waktu dua minggu mulai terbentuk akar. Kondisi ini sangat menguntungkan karena plantlet dapat dihasilkan dalam media multiplikasi tunas tanpa harus dipindahkan ke dalam media untuk induksi perakaran (Gambar 4).

Gambar 4. Plantlet keladi tikus asal kultur kalus
Figure 4. Plantlet of rodent tuber derived from calli culture

KESIMPULAN

Induksi kalus pada keladi tikus dapat diperoleh pada perlakuan yaitu 2,4-D 1,0 mg/l + kinetin 0,1 mg/l dan 2,4-D 1,0 mg/l + kinetin 0,3 mg/l dalam waktu 8 – 10 minggu setelah kultur. Interaksi antara perlakuan asal kalus 2,4-D 1,0 mg/l + kinetin 0,3 mg/l dengan media regenerasi BA 0,3 mg/l menghasilkan jumlah tunas dan daun terbanyak yaitu 13,2 tunas dan 4,4 helai daun, dalam waktu empat minggu. Akar dapat diperoleh pada media yang hanya diperkaya BA.

Dengan diperolehnya metode regenerasi kalus pada keladi tikus, maka penelitian lanjutan dapat dilanjutkan dalam mengaplikasikan teknik mutasi baik fisik maupun kimia terhadap kalus.

Untuk mengetahui adanya peningkatan ragam genetik tanaman, diperlukan pengujian tumbuh plantlet di rumah kaca dan lapang.

DAFTAR PUSTAKA

AHLOOWALIA, B. S. 1982. Plant regeneration from callus culture in wheat. Crop Science 22 : 405-410.

BHASKARAN, S and R. H. SMITH, 1990. Regeneration in cereal tissue culture. A Review. Crop Science 30 : 1328-1336.

BHOJWANI, S. S and M. K. RAZDAN, 1996. Plant Tissue Culture : Theory and Practice, a Revised Edition. Elsevier Science. Amsterdam. The Netherlands. 767p.

ESSAI, 1986. Medicinal Herbs Index in Indonesia. PT Essai Indonesia, Jakarta, 428p.

GEIER, T. 1986. Factors affecting plant regeneration from leaf segments of *Anthurium sccherzerianum* Schott (Araceae) cultured *in vitro*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 6 : 115-125.

GEORGE, E .F, 1993. Plant propagation by tissue culture. Part I. The Technology. Edington, Wilts, Exegetics Ltd, BA 134QG, England.

HEYNE, 1987. Tumbuhan berguna Indonesia. Jilid I. (Terjemahan Badan Litbang Kehutanan). Jakarta.

LARKIN, P. J and SCOWCROFT, W. R. 1988. Somaclonal variation, a novel source of variability from cell culture for plant improvement. Theor. Appl. Genet 60 : 197-214.

LI, W. and Z. CHEN, 1983. Perennial crops. p.92-116. *In:* Z. CHEN, D.A. EVAN, W.R. SHARP, P.V. AMMIRATO and SONDAHL (Eds). Handbook of Plant Cell Culture Vol.6. MacMilan, New York.

LITZ, R.E., P.A. MOON, and V.M. CHAVEZ, 1995. Somatic embryogenesis from leaf callus derived from mature trees of the cycad *Ceratozamia hildae* (Gymnospermae). Plant Cell, Tissue and Organ Culture 40 : 25-31.

MARTONO, B., N. BERMAWIE., S. PURWIYANTI., ERMIATI dan R. BAKTI, 2005. Pengembangan database plasma nutfah tanaman rempah dan obat. Laporan Teknis Balittro (Tidak dipublikasi).

MARISKA, I dan D. SESWITA, 1994. Pengaruh radiasi terhadap daya regenerasi kalus dan minyak hasil regenerasi tanaman nilam. Risalah Pertemuan Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi. Buku II, BATAN Jakarta, p.51-55.

MARISKA, I., D. SUKMADJAJA, A. HUSNI , E. GATI, S.F. SYAHID, D. SURACHMAN dan SUTRISNO. 1995. Variasi somaklonal pada tanaman panili. Laporan Teknis Penelitian Bioteknologi Tanaman Industri. Balittro Bogor (Tidak dipublikasi).

MURASHIGE, T and SKOOG. F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. Phyisiol Plant. 15 : 473-497.

NAGASAWA, A and J. J. FINER, 1988. Induction of morphogenic callus from of Garlic. Hort Sciences 23 (6) : 1068-1070.

PELLOQUIN, S.J. 1981. Manipulation of chromosome and Cytoplasma. p.117-150. *In:* Kenneth J.F. (Eds). Plant Breeding III. Iowa State Univ. Press.

SALEHI, T and M. KHOSH-KHUI, 2005. Effect of genotype and plant growth regulator on callus induction and plant regeneration in four important Turfgrass genera : A comparative study. In vitro Cell. Dev. Biol-Plant 41: 157-161.

THAO, N. T. P ., Y. OZAKI and H. OKUBO, 2003. Callus induction and plantlet regeneration in ornamental *Alocasia micholitziana*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 73 : 285-289.

SYAHID, S.F, 2007. Pertumbuhan, produksi, analisa mutu dan fitokimia keladi tikus (*Typonium flagelliforme*) asal kultur kalus. Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik. (Belum dipublikasi).