

KONSERVASI *IN VITRO* DUA AKSESI LILI MELALUI MODIFIKASI MEDIA KULTUR
IN VITRO CONSERVATION OF TWO LILIUM ACCESSIONS THROUGH CULTURE MEDIUM MODIFICATION

Kurniawan Budiarto^{*1}, Indijarto Budi Rahardjo², Hanudin² dan Wakhiah Nuryani²

¹Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika, Jl. Raya Tlekung No.1 Junrejo, Kota Batu (65327), Jawa Timur

²Balai Penelitian Tanaman Hias, Jl. Raya Pacet – Ciherang, Ciherang, Pacet, Cianjur (43253), Jawa Barat

Korespondensi : kbud1arto@gmail.com

Diterima : 12 Februari 2019/Disetujui : 29 oktober 2019

ABSTRAK

Konservasi *in vitro* merupakan salah satu alternatif penyimpanan materi genetik dalam kondisi aseptik. Metode ini dapat mengurangi resiko kepunahan materi genetik akibat kondisi lingkungan yang ekstrem dan kerumitan pengelolaan pada skala *in vivo* terutama untuk tanaman yang berasal dari subtropis, seperti lili. Metode penghambatan pertumbuhan dan ketahanan plantlet selama perlakuan konservasi merupakan faktor penting untuk kelangsungan hidup materi genetik yang disimpan. Penelitian bertujuan untuk mengevaluasi media konservasi melalui modifikasi kandungan nutrisi dan konsentrasi sukrosa untuk konservasi *in vitro* jangka menengah terhadap dua aksesori lili yaitu lokal *Lilium longiflorum* dan cv. Candilongi. Penelitian dilakukan di Balai Penelitian Tanaman Hias mulai Januari 2015 sampai September 2017. Hasil penelitian menunjukkan laju kematian plantlet semakin meningkat seiring dengan lamanya waktu penyimpanan. Laju kematian plantlet dengan pertumbuhan daun yang terendah diperlihatkan oleh plantlet lili yang dikonservasi pada media ¼ MS + 7 % sukrosa dengan kisaran 27-31 % setelah 24 bulan penyimpanan. Dua genotipe lili menunjukkan respon pertumbuhan yang berbeda selama konservasi *in vitro* dan *in vivo*, namun tidak pada media konservasi yang dicoba. Plantlet lili lokal *L. longiflorum* mempunyai jumlah daun lebih sedikit selama konservasi *in vitro*. Sedangkan cv. Candilongi memperlihatkan tinggi tanaman yang lebih rendah dengan jumlah bunga lebih banyak dan ukuran bunga lebih besar pada evaluasi *in vivo*.

Kata kunci: keragaan *in vivo*, konsentrasi sukrosa, konservasi *in vitro*, Lili, modifikasi media

ABSTRACT

In vitro conservation is an alternative method of plant genetic resources preservation in aseptic condition. The method has successfully applied in many crops and reduced the limitation of *in vivo* conservation of non-native crop as Lily planted in the tropic area. Growth inhibition method and plantlet resistance are important factors to ensure the life-span of the conserved

plantlet during *in vitro* storage. The research aimed to evaluate the media compositions and sucrose concentrations for mid-term conservation of two *Lilium* accessions, local *L. longiflorum* and cv. Candilongi. The experiment was carried out at Indonesian Ornamental Crops Research Institute from January 2015 to September 2017. The results showed the plantlet death rates increased in line with the duration of storages. After 24 months storage, plantlets conserved under $\frac{1}{4}$ MS + 7% sucrose showed fewer numbers of leaves and death plantlets in the range of 27-31%. Growth plantlet retardation during storage was merely detected on local *L. longiflorum* that showed less leaves development. Plantlet of cv. Candilongi had shorter plant height, yet bigger flower size and higher number of flower per plant under *in vivo* evaluation.

Keywords: *in vitro* conservation, *in vivo* performances, *Lilium*, media modification, sucrose concentrations

PENDAHULUAN

Lili (*Lilium* sp) merupakan salah satu tanaman hias bunga potong yang banyak diperdagangkan di dunia. Genus *Lilium* mempunyai lebih dari 100 spesies yang tersebar dari Sierra Nevada dan pegunungan Rocky hingga sebelah timur Amerika Utara melalui Eropa, Timur Tengah hingga Pegunungan Caucasus, Siberia dan sebelah timur Asia (Balangcod *et al.*, 2011; Gao *et al.*, 2015; İkinci *et al.*, 2006). Sentra produksi lili di Indonesia umumnya berada di dataran tinggi di daerah Cianjur, Bandung, Sukabumi, Malang, dan Bali (Pramanik & Rachmawati, 2010). Pengembangan agribisnis tanaman lili juga didukung dengan hadirnya varietas unggul baru nasional hasil rakitan dalam negeri yang adaptif di kondisi tropis seperti Indonesia (Sanjaya, 2010).

Tanaman lili mempunyai siklus hidup lebih dari satu musim (*biannual*) di daerah aslinya. Spesies lili dapat membentuk biji secara alami dan berkecambah membentuk umbi mikro. Dalam pertumbuhannya, umbi mini ini berkembang membesar dengan membentuk daun-daun roset (sisik umbi) pada musim panas dan menggugurkan daunnya pada

musim gugur (Mojtahedi *et al.*, 2013). Dalam proses pembesaran, umbi utama juga membentuk umbi-umbi mini baru. Umbi dengan daun yang gugur akan tetap dorman selama musim dingin (Asker, 2012). Umbi akan membentuk batang utama yang tumbuh memanjang pada suhu lingkungan yang mulai menghangat pada musim semi dan berbunga pada ujung terminal (Lucidos *et al.*, 2013). Proses pembesaran umbi yang lama dan kebutuhan suhu dingin dalam siklus fisiologisnya menyulitkan pelestarian dan pengelolaan plasma nutfah secara *in vivo* di daerah tropis seperti di Indonesia. Konservasi *in vivo* membutuhkan tempat yang luas dengan kondisi lingkungan yang terkendali sesuai dengan sifat tanaman yang umumnya berasal dari daerah subtropis (Engelmann, 1991). Pada konservasi *in vivo* juga beresiko terjadinya kesalahan pelabelan akibat kesalahan manusia dan terjadinya kehilangan atau kematian materi genetik akibat serangan hama dan penyakit serta bencana alam (Kaviani, 2011).

Konservasi *in vitro* merupakan alternatif metode konservasi yang dapat meminimalisir kendala konservasi *in vivo*. Pada konservasi *in vitro*, materi genetik ditanam di dalam botol

dan disimpan dalam tempat yang terkontrol sehingga hanya memerlukan ruangan yang lebih sempit untuk menyimpan materi genetik dalam jumlah yang besar. Konservasi *in vitro* juga mengurangi kehilangan atau matinya materi genetik akibat serangan hama dan penyakit karena ditanam pada media aseptik dalam botol (Rao, 2004).

Pada konservasi *in vitro*, materi genetik yang ditanam dalam media aseptik dan diinduksi dalam pertumbuhan minimal melalui perlambatan proses pembelahan sel tetapi tidak mematikan jaringan. Induksi perlambatan pertumbuhan umumnya menggunakan satu atau kombinasi metode-metode sebagai berikut: pengurangan hara (Bonnier, 1997), peningkatan sukrosa dan penggunaan zat penghambat tumbuh seperti ABA (Yung-Peng *et al.*, 2012), pengurangan komposisi garam makro dan mikro menjadi $\frac{1}{2}$ sampai $\frac{1}{4}$ komposisi normal (Yung-Peng *et al.*, 2012), penurunan suhu sampai 4 - 12°C (Devi, Sahoo *et al.*, 2015; Ozen *et al.*, 2016), memberikan tekanan osmotik dengan menambahkan bahan osmotik seperti manitol atau sukrosa dan penggunaan zat penghambat pertumbuhan seperti asam absisat/ABA (Cha-um & Kirdmanee, 2007), penggunaan retardan seperti paclobutrazol, B-9 dan ancymidol (Dhyani *et al.*, 2014), dan menurunkan tekanan atmosfer atau oksigen (Dhyani *et al.*, 2017). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa penggunaan media dengan konsentrasi nutrisi tinggi justru berakibat pada peningkatan laju pertumbuhan. Selain itu juga dapat digunakan tempat kultur yang lebih besar dan lebih banyak volume medium untuk menghindarkan plantlet dari kekurangan

nutrisi selama penyimpanan (Tahtamouni *et al.*, 2015).

Organ umbi merupakan pusat titik tumbuh tanaman lili sehingga upaya memperlambat pertumbuhan umbi mini (pembentukan sisik umbi dan umbi mini baru) merupakan faktor yang menentukan kehidupan materi genetik selama periode konservasi tertentu. Sisik umbi merupakan tempat penyimpanan makanan (Zhang & Jia, 2014) sehingga penekanan pertumbuhan umbi mini akan memperlambat perbesaran umbi dan pertumbuhan daun. Perlambatan pertumbuhan umbi mini dapat dilakukan dengan modifikasi media dengan pengurangan konsentrasi nutrisi (Syahid & Bermawie, 2000) dan peningkatan konsentrasi sukrosa (Huh *et al.*, 2016) dengan maksud meningkatkan tekanan osmotik untuk penurunan kelarutan nutrisi pada media. Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh media kultur melalui modifikasi komposisi garam makro dan mikro serta konsentrasi sukrosa untuk konservasi aksesi lili secara *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan dari bulan Januari 2015 sampai Desember 2017 di Kebun Percobaan Segunung, Balai Penelitian Tanaman Hias (Balithi) yang berlokasi pada ketinggian 1100 mdpl. Penelitian menggunakan rancangan acak kelompok (RAK) pola faktorial dengan lima ulangan. Faktor pertama adalah dua aksesi lili yaitu *Lilium longiflorum* lokal dan cv. Candilongi. Sedangkan faktor kedua adalah jenis media konservasi yang terdiri dari $\frac{1}{4}$ MS + 7% sukrosa, $\frac{1}{4}$ MS + 9% sukrosa, $\frac{1}{2}$ MS + 7%

sukrosa, ½ MS + 9% sukrosa, MS + 7% sukrosa, dan MS + 9% sukrosa. Setiap kombinasi perlakuan mempunyai 60 tanaman sampel pada setiap ulangan. Tahapan percobaan ini meliputi persiapan bahan eksplan, penanaman eksplan dan perbanyakan plantlet, inokulasi umbi mini pada media konservasi dan pemeliharaan plantlet terkonservasi serta pengujian *in vivo* plantlet terkonservasi.

Persiapan bahan eksplan

Bahan eksplan berupa umbi dari masing-masing varietas lili berdiameter 5-7 cm diperoleh dari Unit Pengelola Benih Sumber (UPBS) Balithi. Umbi-umbi tersebut ditanam pada baki *porous* dengan media arang sekam dengan ketebalan 5 cm dan dipelihara di bawah kondisi rumah kaca. Setiap dua hari sekali, umbi-umbi tersebut disiram dengan larutan bakterisida dan fungisida *Oksitetrasiklin* 150 g l⁻¹. Setelah 3 minggu, umbi-umbi ini kemudian dibersihkan pada air mengalir dan dibawa ke dalam laboratorium untuk sterilisasi. Umbi direndam pada larutan fungisida Mancozeb 2 g l⁻¹ selama 30 menit. Setelah ditiriskan, sisik-sisik umbi kemudian dipisahkan dari umbi utama dan dimasukkan dalam air steril. Tahapan sterilisasi selanjutnya dilakukan di dalam *Laminair Air Flow Cabinet* (L AFC).

Sisik-sisik umbi hasil pemisahan dari umbi besar dimasukkan dalam larutan NaOCl 2% dan digoyang perlahan sekitar 1 menit. Sisi umbi kemudian dikeluarkan dan dimasukkan kembali ke dalam larutan yang sama pada konsentrasi 1% dan digoyang perlahan selama 2 menit. Setelah ditiriskan, umbi direndam dalam larutan alkohol berturut-turut pada konsentrasi 80% dan 70% kemudian digoyang

perlahan selama 1 menit. Sisik umbi kemudian dibilas dengan *aquadest* 2 kali dan dikeringkan dengan menempatkannya di atas kertas saring dalam cawan Petridish. Sisik umbi tersebut menjadi bahan eksplan untuk ditanam pada media induksi.

Penanaman eksplan dan perbanyakan plantlet

Eksplan ditanam pada media MS + 1 mg l⁻¹ BA + 1 mg l⁻¹ NAA (El-Naggar *et al.*, 2012) untuk menginduksi pembentukan tunas secara langsung. Tunas yang tumbuh kemudian disubkultur pada media yang sama untuk mendapatkan plantlet yang seragam. Setelah tunas tumbuh dan mempunyai minimal 2 daun (4 - 5 minggu setelah tanam), tunas kemudian disubkultur untuk pembentukan umbi mini (bulbet) pada media MS + 1.5 mg l⁻¹ BAP (Marijana *et al.*, 2012). Subkultur dilakukan beberapa kali hingga jumlah umbi mini mencukupi sebagai materi pengujian konservasi.

Inokulasi umbi mini pada media konservasi dan pemeliharaan plantlet terkonservasi

Media padat perlakuan konservasi ditempatkan pada botol berdiameter 3 cm dengan tinggi 9 cm dengan volume 7 ml per botol. Umbi mini diseleksi dan bulbet yang digunakan mempunyai diameter minimal 0.5 cm. Daun bulbet dipotong dan bulbet ditanam pada media konservasi. Bulbet dipelihara pada lemari pendingin dengan suhu 18°C dengan penerangan 1000 lux selama 5 hari. Setelah 5 hari, lampu dimatikan dan suhu lemari penyimpanan diturunkan 2°C setiap dua hari hingga suhu di dalam lemari penyimpanan mencapai 4°C. Plantlet

kemudian disimpan selama 24 bulan (2 tahun).

Pengujian *in vivo* plantlet terkonservasi

Setiap 4 bulan sekali sebanyak 10 plantlet pada setiap kombinasi perlakuan dipindahkan ke lemari berpendingin lain. Suhu pada lemari berpendingin ini dinaikkan 2°C setiap dua hari hingga mencapai 18°C. Plantlet kemudian dipindahkan pada ruangan inkubasi bersuhu 18 – 21°C dan diberi cahaya dengan intensitas 1000 lux selama 7 hari. Plantlet bulbet kemudian disubkultur pada media MS + 2 mg l⁻¹ IBA (Mir *et al.*, 2012) dan dipelihara selama 25 hari untuk menginduksi pertumbuhan akar. Plantlet yang telah berakar kemudian diaklimatisasi pada media arang sekam pada baki selama 1 bulan. Tanaman muda hasil aklimatisasi kemudian ditanam pada bedengan dan dipelihara secara standar hingga berbunga.

Pengamatan plantlet meliputi persentase kematian tanaman setiap 4 bulan dan keragaan plantlet yang meliputi jumlah daun dan warna plantlet serta fenomena visual lain pada plantlet. Pada pengujian *in vivo*, parameter pengamatan yang diamati meliputi tinggi tanaman, jumlah bunga per tanaman, lebar bunga mekar, dan warna bunga. Rata-rata hasil pengamatan dianalisis dengan menggunakan ANOVA dan dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT) pada selang kepercayaan ≥ 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Persentase kematian plantlet

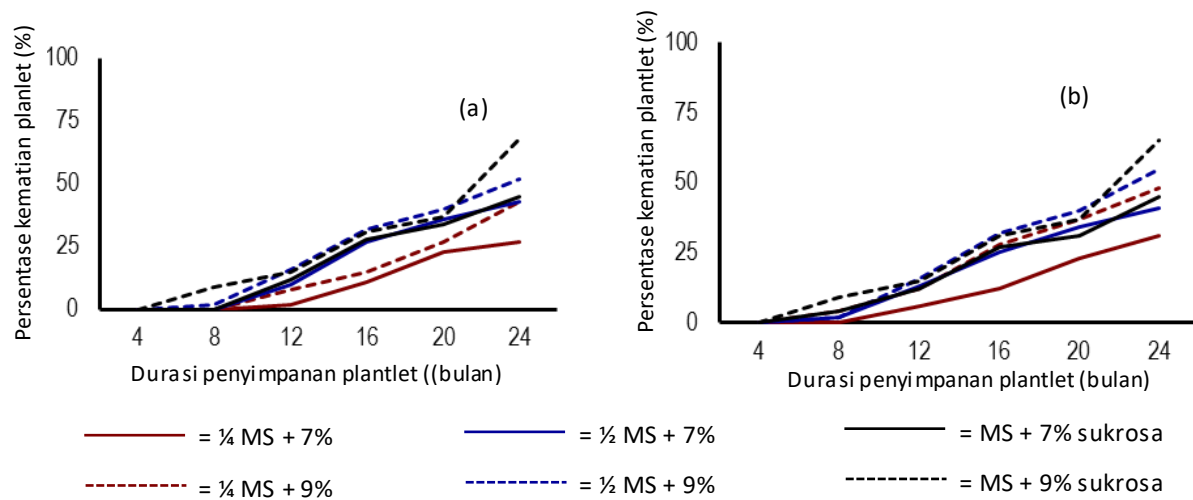
Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa tidak terdapat interaksi antara aksesi lili dan media konservasi. Tingkat kematian

plantlet dua aksesi lili cenderung meningkat pada setiap durasi pengamatan yang dilakukan setiap 4 bulan dengan trend yang hampir sama (Gambar 1). Persentase kematian plantlet pada 2 aksesi lili yang dicoba hampir sama, yaitu mencapai 46,3% pada aksesi *L. longiflorum* lokal dan 47,5% pada plantlet cv. Candilongi setelah 24 bulan penyimpanan pada suhu dingin (Tabel 1). Hal ini mengindikasikan bahwa kedua aksesi lili mempunyai sifat retensi ketahanan yang hampir sama terhadap perlakuan media konservasi. Sifat ketahanan yang hampir sama ini diduga berhubungan dengan latar belakang genetik kedua aksesi tersebut. Bonnier & van Tuyl (1997) juga mendapatkan perbedaan tingkat kematian plantlet pada genotip yang berbeda pada konservasi *in vitro* lili yang disimpan pada suhu ruangan (25°C).

Tabel 1. Persentase kematian plantlet pada dua aksesi lili dan media konservasi *in vitro* setelah 24 bulan penyimpanan.

Media	Persentase kematian plantlet setelah 24 bulan penyimpanan (%)
Aksesi lili	46,3 a
- <i>L. longiflorum</i>	47,5 a
- cv. Candilongi	
Media konservasi	
- ¼ MS + 7% sukrosa	29,0 a
- ¼ MS + 9% sukrosa	45,5 b
- ½ MS + 7% sukrosa	42,0 b
- ½ MS + 9% sukrosa	53,5 c
- MS + 7% sukrosa	45,0 b
- MS + 9% sukrosa	66,5 d

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji Beda Nyata Terkecil (α= 5%).



Gambar 1. Persentase kematian plantlet lili terkonservasi (a) *L. longiflorum* lokal dan (b) cv. Candilongi pada media konservasi yang berbeda.

Secara umum, awal kematian plantlet terdeteksi setelah 8 bulan penyimpanan (Gambar 1). Pada *L. longiflorum* lokal, kematian awal plantlet terjadi pada media ½ MS dan MS yang diberi penambahan sukrosa pada konsentrasi 9%. Sedangkan pada cv. Candilongi, kematian plantlet awal terjadi pada semua media konservasi kecuali ¼ MS + 7% sukrosa. Laju kematian plantlet kemudian semakin meningkat sejalan dengan bertambahnya durasi penyimpanan. Pada kedua aksesori lili yang dicoba, kematian plantlet terlihat lebih tinggi pada media konservasi dengan penambahan sukrosa 9% dengan kisaran 45,5–66,5% (Tabel 1). Penambahan konsentrasi sukrosa ditujukan untuk menambah tekanan osmotik pada media sehingga ketersediaan nutrisi dan air menjadi menurun bagi plantlet (Keatmetha *et al.*, 2006). Kondisi ini diharapkan dapat menurunkan laju pertumbuhan plantlet (El-Bahr *et al.*, 2016). Sedangkan, pada suhu

rendah (4°C), dormansi umbi umumnya patah (Langens-Gerrits *et al.*, 2003) sehingga plantlet mempunyai kecenderungan untuk tumbuh dengan membentuk daun dan organ lainnya. Pembentukan organ-organ seperti daun membutuhkan energi yang pada akhirnya ditranslokasi dari cadangan makanan yang tersimpan dalam sisik umbi (Zhang *et al.*, 2011). Kondisi ini diduga mengakibatkan ketidakseimbangan antara pasokan dan translokasi nutrisi dalam tubuh plantlet sehingga mengakibatkan kematian plantlet lebih tinggi.

Berdasarkan konsentrasi media MS, plantlet yang dikonservasi pada media MS penuh menunjukkan tingkat kematian yang lebih tinggi (45–66,5%) dibandingkan dengan ½ MS (42–53,5%) dan ¼ MS (29–45,5%) (Tabel 1). Tingkat kematian plantlet terkonservasi yang rendah pada ¼ MS diduga berhubungan dengan induksi yang diberikan dengan minimnya nutrisi yang tersedia saat

awal isolasi. Rendahnya konsentrasi akan menginduksi umbi mini dalam masa dormansi (Mojtahedi *et al.*, 2014). Kondisi ini bersifat kontradiktif dengan suhu rendah yang cenderung membuat patahnya dormansi umbi sehingga diduga proses pemecahan dormansi umbi berjalan lebih lambat. Lambatnya pemecahan dormansi umbi mengakibatkan proses pembentukan organ-organ pertumbuhan yang menguras cadangan makanan berjalan lebih lambat dan meningkatkan ketahanan plantlet untuk penyimpanan lebih lama pada suhu rendah.

Keragaan pertumbuhan plantlet terkonservasi

Jumlah daun dan warna plantlet dua aksesori lili yang dikonservasi pada media yang berbeda disajikan pada Tabel 2. Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa tidak terdapat interaksi yang signifikan antara perlakuan media konservasi dan aksesori lili terhadap jumlah daun plantlet.

Semua plantlet berwarna putih yang diduga diakibatkan kondisi gelap selama proses penyimpanan. Kondisi gelap ini ditujukan untuk mengurangi aktifitas metabolisme sel sehingga proses respirasi plantlet dapat ditekan (Hassan *et al.*, 2014). Menurunnya aktifitas metabolisme sel diharapkan dapat menurunkan laju pertumbuhan plantlet dan translokasi cadangan makanan sehingga plantlet dapat bertahan hidup lebih lama (Shawky & Aly, 2007).

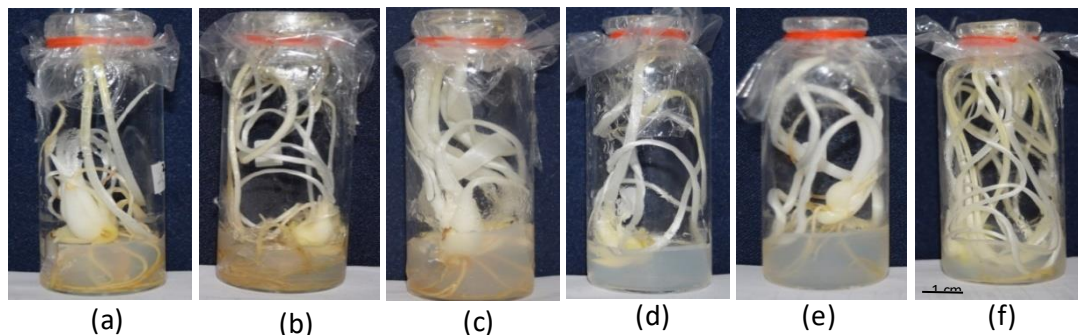
Jumlah daun plantlet meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi nutrisi media MS (Tabel 2). Sedangkan pengaruh perbedaan konsentrasi sukrosa pada konsentrasi MS yang sama tidak signifikan

terhadap jumlah daun plantlet terkonservasi setelah 24 bulan penyimpanan. Kondisi ini mengindikasikan bahwa rendahnya konsentrasi nutrisi menginduksi penekanan pertumbuhan daun dan sebaliknya makin tinggi konsentrasi nutrisi MS dapat menginduksi pembentukan daun yang lebih tinggi. Keragaan plantlet *L. longiflorum* lokal dan cv. Candilongi yang dikonservasi pada konsentrasi media MS yang berbeda setelah 24 bulan penyimpanan disajikan pada Gambar 2. Fenomena meningkatnya laju pertumbuhan pada konsentrasi nutrisi yang tinggi juga dilaporkan pada konservasi *in vitro* pisang (Edirisinghe *et al.*, 2017), carica (Rahayu & Habibah, 2016) dan *Smalanthus sonchifolius* (Skalova *et al.*, 2012).

Tabel 2. Jumlah daun dan warna plantlet pada dua aksesori lili dan media konservasi *in vitro* setelah 24 bulan penyimpanan.

Perlakuan	Jumlah daun ^{*)}	Warna plantlet
Aksesori lili		
- <i>L. longiflorum</i>	3,5 a	Putih
- cv. Candilongi	4,3 b	Putih
Media konservasi		
- ¼ MS + 7 % sukrosa	2,6 a	Putih
- ¼ MS + 9 % sukrosa	3,1 ab	Putih
- ½ MS + 7 % sukrosa	4,0 bc	Putih
- ½ MS + 9 % sukrosa	4,2 bc	Putih
- MS + 7 % sukrosa	4,5 c	Putih
- MS + 9 % sukrosa	4,8 c	Putih

Keterangan: ^{*)} Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji Beda Nyata Terkecil ($\alpha=5\%$).



Gambar 2. Keragaan plantlet lili lokal *L. longiflorum* yang dikonservasi pada media $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$ dan MS (berturut-turut a, b, c) dan cv. Candilongi pada media yang sama (berturut-turut d, e, f) setelah 24 bulan penyimpanan.

Keragaan tanaman *in vivo* pasca konservasi

Plantlet diadaptasikan melalui penanaman secara *in vivo* untuk dievaluasi lebih lanjut. Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa tidak terdapat interaksi antara perlakuan media konservasi dan aksesi lili pada tinggi tanaman, jumlah bunga per tanaman dan lebar bunga mekar tanaman lili yang ditanam secara *in vivo* setelah penyimpanan 24 bulan secara *in vitro*. Tinggi tanaman, jumlah bunga per tanaman dan lebar bunga mekar tanaman lili yang berasal dari plantlet yang dikonservasi pada berbagai media tidak menunjukkan variasi yang signifikan setelah penyimpanan secara *in vitro* selama 24 bulan. Perbedaan keragaan fenotipik tanaman lili pasca konservasi *in vitro* terlihat pada dua aksesi yang dicoba (Tabel 3).

Tinggi tanaman, jumlah bunga per tanaman dan lebar bunga mekar yang tidak bervariasi pada tanaman lili yang berasal dari plantlet yang dikonservasi secara *in vitro* selama 24 bulan pada media konservasi yang berbeda menunjukkan bahwa media konservasi yang digunakan tidak menyebabkan variasi pada karakter fenotipik

yang diamati. Hal ini mengindikasikan bahwa pengaruh perlambatan pertumbuhan aksesi lili akibat perlakuan konsentrasi media MS dan sukrosa yang tinggi pada media selama proses konservasi *in vitro* tidak berlanjut pada pertumbuhan tanaman saat ditanam pada skala *in vivo*. Hal ini diduga media MS dan sukrosa diduga tidak menginduksi variasi pada struktur genetik tanaman lili selama proses penyimpanan secara *in vitro* sehingga perlambatan pertumbuhan tanaman pada skala *in vivo* tidak terjadi. Keberhasilan konservasi *in vitro* melalui modifikasi konsentrasi media MS juga telah banyak dilaporkan pada beberapa tanaman seperti jahe (Syahid & Bermawie, 2000), spesies liar anyelir (Catană *et al.*, 2010) dan panili (Seswita & Hadipoentyanti, 2003). Demikian juga penggunaan sukrosa pada konsentrasi tinggi sebagai osmo-regulator juga telah digunakan pada konservasi *in vitro* tanaman sagu (Sumaryono *et al.*, 2012), kurma (El-Dawayati *et al.*, 2018), dan *Capparis spinose* (Al-Mahmood *et al.*, 2012).

Karakteristik bunga pada tanaman *L. longiflorum* local dan cv. Candilongi hasil konservasi *in vitro* juga tidak berbeda dengan deskripsi awal sebelum konservasi *in vitro* dilakukan. Kondisi ini diduga disebabkan oleh konstruksi genetik kedua aksesori lili cukup stabil selama 24 bulan proses konservasi *in vitro* dengan perlakuan modifikasi media MS dan penambahan sukrosa. Hal tersebut juga sesuai dengan penelitian Bonnier & van Tuyl

(1997) dengan menggunakan genotip yang berbeda. Sedangkan perbedaan tinggi tanaman, jumlah bunga per tanaman dan lebar bunga mekar di antara aksesori lili (Tabel 3) menunjukkan bahwa perbedaan konstruksi genetik berpengaruh pada potensi genotip dalam memanfaatkan kondisi lingkungan untuk pertumbuhan vegetatif dan bunga yang dihasilkan (Hassan *et al.*, 2014).

Tabel 3. Tinggi tanaman, jumlah bunga per tanaman dan lebar bunga mekar pada pengujian *in vivo* yang berasal dari plantlet dua aksesori lili dan perlakuan media konservasi *in vitro* setelah 24 bulan penyimpanan.

Perlakuan	Tinggi tanaman (cm)	Jumlah bunga per tanaman	Lebar bunga mekar (cm)
Aksesori lili			
<i>L. longiflorum</i>	83,1 a	3,1 a	10,8 a
cv. Candilongi	66,3 b	4,2 b	12,1 b
Media konservasi			
¼ MS + 7% sukrosa	72,1 a	3,7 a	11,3 a
¼ MS + 9% sukrosa	73,3 a	3,5 a	10,2 a
½ MS + 7% sukrosa	74,7 a	3,6 a	10,8 a
½ MS + 9% sukrosa	75,6 a	3,6 a	11,3 a
MS + 7% sukrosa	75,6 a	3,5 a	11,0 a
MS + 9% sukrosa	76,9 a	3,8 a	10,5 a

Keterangan : Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji Beda Nyata Terkecil ($\alpha= 5\%$).

SIMPULAN

Konservasi *in vitro* lili melalui modifikasi konsentrasi media MS dan sukrosa pada dua aksesori lili dapat dilakukan selama 24 bulan dengan laju kematian dan pertumbuhan plantlet yang bervariasi. Laju kematian plantlet dengan pertumbuhan daun yang terendah diperlihatkan oleh plantlet lili yang dikonservasi pada media ¼ MS + 7% sukrosa pada kisaran 27-31%. Dua aksesori lili menunjukkan respon pertumbuhan yang

berbeda selama konservasi *in vitro* dan evaluasi *in vivo*. Lili *L. longiflorum* menunjukkan jumlah daun yang lebih sedikit selama konservasi *in vitro* dengan performa tanaman yang lebih tinggi pada skala *in vivo*. Sedangkan cv. Candilongi memperlihatkan jumlah daun lebih banyak pada konservasi *in vitro* dengan jumlah bunga per tanaman dan ukuran bunga yang lebih tinggi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, melalui Pusat Penelitian dan Pengembangan Hortikultura, Balai Penelitian Tanaman Hias yang telah mendanai kegiatan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Mahmood, H. J., Shatnawi, M. A., Shibli, R. A., Makhadmeh, I. M., Abubaker, S. H., & Shadiadeh, A. N. (2012). Clonal propagation and medium-term conservation of *Capparis spinosa*: A medicinal plant. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(22), 3826–3836. <https://doi.org/10.5897/JMPR11.547>
- Asker, H. M. (2012). Effect of bulb removal date on growth and flowering of Asiatic hybrid lily cv. Brunello. *African Journal of Agricultural Research*, 7(43), 5796–5799. <https://doi.org/10.5897/AJAR12.1331>
- Balangcod, T. D., Cuevas, V. C., Buot, I. E., & Balangcod, A. K. D. (2011). Geographic distribution of *Lilium philippinense* baker (Liliaceae) in the Cordillera central range, Luzon island, Philippines. *Taiwania*, 56(3), 186–194.
- Bonnier, F. J. M. (1997). *Long term storage of clonal material of lily (Lilium L.)*. Wageningen University and Research.
- Catană, R., Mitoi, E. M., Helepiciuc, F., & Holobiuc, I. (2010). *In vitro* conservation under slow growth conditions of two rare plant species from Caryophyllaceae family. *Electronic Journal of Biology*, 6(4), 86–91.
- Cha-um, S., & Kirdmanee, C. (2007). Minimal growth *in vitro* culture for preservation of plant species. *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology*, 1(1), 13–25.
- Devi, M. P., Sahoo, M. R., Dasgupta, M., Prakash, N., & Ngachan, S. V. (2015). Standardization of *in vitro* regeneration protocol for conservation of Shirui lily (*Lilium mackliniae*) - An endangered heritage flower under changing climatic conditions. *Procedia Environmental Sciences*, 29, 288. <https://doi.org/10.1016/j.proenv.2015.07.217>
- Dhyani, A., Nautiyal, B. P., & Nautiyal, M. C. (2017). Distribution, status and conservation of *Lilium polyphyllum* (Liliaceae), a critically endangered medicinal plant from India. *Plant Biosystems*, 1–4. <https://doi.org/10.1080/11263504.2017.1330777>
- Dhyani, A., Sharma, G., Nautiyal, B. P., & Nautiyal, M. C. (2014). Propagation and conservation of *Lilium polyphyllum* D. Don ex Royle. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 1(4), 144–147. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2014.10.001>
- Edirisinghe, E. S. C., Denagamage, C. H., & Samarasinghe, W. L. G. (2017). Effect of nutrient medium compositions in *in vitro* conservation of Musa spp. *Annals of Sri Lanka Department of Agriculture*, 19(2), 60–70.
- El-Bahr, M. K., Abd EL-Hamid, A., Matter, M. A., Shaltout, A., Bekheet, S. A., & El-Ashry, A. A. (2016). *In vitro* conservation of embryogenic cultures of date palm using osmotic mediated growth agents. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 14(2), 363–370. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2016.08>

004

- El-Dawayati, M. M., Baki, M. A. A., & Abdelgalil, L. M. (2018). Effect of different conservation period with different sucrose concentrations on conserving somatic embryo clusters of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) under minimal growth conditions. *Applied Science Reports*, 21(1), 14–21. <https://doi.org/10.15192/PSCP.ASR.2018.1421>
- El-Naggar, H., Osman, A., & Sewedan, E. (2012). In vitro propagation and organogenesis of *Lilium* 'Prato.' *African Journal of Biotechnology*, 11(82), 14771–14776. <https://doi.org/10.5897/AJB12.1512>
- Engelmann, F. (1991). In vitro conservation of tropical plant germoplasm. *Euphytica*, 57, 227–243.
- Gao, Y. D., Harris, A., & He, X. J. (2015). Morphological and ecological divergence of *Lilium* and *Nomocharis* within the Hengduan Mountains and Qinghai-Tibetan Plateau may result from habitat specialization and hybridization. *BMC Evolutionary Biology*, 15, 147. <https://doi.org/10.1186/s12862-015-0405-2>
- Hassan, N. A., Stino, R. G., Gomaa, A. H., & Al-Mousa, R. N. (2014). In vitro medium-term germplasm conservation and genetic stability of grape (*Vitis vinifera* L.). *Journal of Horticultural Science & Ornamental Plants*, 6(1), 9–17. <https://doi.org/10.5829/idosi.jhsop.2014.6.1.1133>
- Huh, Y. S., Lee, J. K., Nam, S. Y., Hong, E. Y., Paek, K. Y., & Son, S. W. (2016). Effects of altering medium strength and sucrose concentration on in vitro germination and seedling growth of *Cypripedium macranthos* Sw. *Journal of Plant Biotechnology*, 43(1), 132–137. <https://doi.org/10.5010/JPB.2016.43.1.132>
- İkinci, N., Oberprieler, C., & Güner, A. (2006). On the origin of European lilies: Phylogenetic analysis of *Lilium* section *Liriotypus* (Liliaceae) using sequences of the nuclear ribosomal transcribed spacers. *Willdenowia*, 36(2), 647–656. <https://doi.org/10.3372/wi.36.36201>
- Kaviani, B. (2011). Review article conservation of plant genetic resources by cryopreservation. *Australian Journal of Crops Science*, 5(6), 778–800.
- Keatmetha, W., Suksa-Ard, P., Mekanawakul, M., & Te-Chato, S. (2006). In vitro germplasm conservation of *Garcinia mangostana* L. and *Lansium domesticum* Corr. *Walailak Journal of Science and Technology*, 3(1), 33–50.
- Langens-Gerrits, M. M., Miller, W. B. M., Croes, A. F., & De Klerk, G.-J. (2003). Dormancy breaking in lily bulblets regenerated in vitro: Effects on growth after planting. *Plant Growth Regulation*, 40, 267–275. <https://doi.org/10.1023/A:1025018728178>
- Lucidos, J. G., Ryu, K. B., Younis, A., Kim, C. K., Hwang, Y. J., Son, B. G., & Lim, K. B. (2013). Different day and night temperature responses in *Lilium hansonii* in relation to growth and flower development. *Horticulture Environment and Biotechnology*, 54(5), 405–411. <https://doi.org/10.1007/s13580-013-1241-1>
- Marijana, S., Suzana, Ž., Jelena, S., Branislav, S. iler, Aneta, S., Sladjana, T., & Dragoljub, G. ić. (2012). Efficient one-step tissue culture protocol for

- propagation of endemic plant, *Lilium martagon* var. *cattaniae* Vis. *African Journal of Biotechnology*, 11(8), 1862–1867.
<https://doi.org/10.5897/AJB11.2076>
- Mir, J. I., Ahmed, N., Itoo, H., Sheikh, M. A., Rashid, R., & Wani, S. H. (2012). *In vitro* propagation of *Lilium* (*Lilium longiflorum*). *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 82(5), 455–458.
- Mojtahedi, N., Koobaz, P., Fathi, M., Dabirashrafi, O., Azadi, P., & Khosravi, S. (2014). Maturing, enlarging and breaking dormancy of *in vitro* liliium bulblets. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, 1(2), 101–109.
- Mojtahedi, N., Masuda, J., Hiramatsu, M., Hai, N. T. L., Mizunoe, Y., & Okubo, H. (2013). Variation of dormancy and early flowering ability in *Lilium longiflorum* and *L. formosanum* populations in the Ryukyu Archipelago and Taiwan. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 82(3), 234–241.
<https://doi.org/10.2503/jjshs1.82.234>
- Ozen, F., Aka, G., & Aksoy, O. (2016). Genetic diversity and conservation strategies of some *Lilium candidum* L. population in Turkey. *Bangladesh Journal of Botany*, 45(1), 133–141. Retrieved from [http://www.dnp.go.th/geneticsgroup/genetic/paper/genetic diversity and conservation thailand.pdf](http://www.dnp.go.th/geneticsgroup/genetic/paper/genetic%20diversity%20and%20conservation%20thailand.pdf)
- Pramanik, D., & Rachmawati, F. (2010). Pengaruh jenis media kultur *in vitro* dan jenis eksplan terhadap morfogenesis lili oriental. *Jurnal Hortikultura*, 20(2), 111–119.
<https://doi.org/10.21082/jhort.v20n2.2010.p%25p>
- Rahayu, E. S., & Habibah, N. A. (2016). Optimization of *in vitro* conservation protocol of *Carica pubescens* Lenne & K. Koch through medium concentration, temperature and irradiation duration decrease. *Biosaintifika Journal of Biology & Biology Education*, 8(1), 85.
<https://doi.org/10.15294/biosaintifika.v8i1.5371>
- Rao, N. K. (2004). Plant genetic resources: Advancing conservation and use through biotechnology. *African Journal of Biotechnology*, 3(2), 136–145.
<https://doi.org/10.4314/ajb.v3i2.14931>
- Sanjaya, L. (2010). Perakitan varietas tanaman kerk lili yang berbunga tegak dan wangi serta tabung bunga pendek. *Jurnal Hortikultura*, 20(4), 321–331.
- Seswita, D., & Hadipoentyanti, E. (2003). Konservasi *in vitro* Panili (*Vanilla planifolia* Andrews.) melalui pertumbuhan minimal. *Buletin Penelitian Tanaman Rempah Dan Obat*, 14(1), 1–7.
<https://doi.org/10.21082/bullittro.v14n1.2003.%25p>
- Shawky, B., & Aly, U. I. (2007). *In vitro* conservation of Globe Artichoke (*Cynara scolymus* L.) germplasm. *International Journal of Agriculture & Biology*, 9(3), 404–407.
- Skalova, I., Viehmannova, I., & Vitamvas, J. (2012). *In vitro* conservation of *Smallanthus sonchifolius* under slow-growth conditions. *Agricultura Tropica Et Subtropica*, 45(3), 147–150.
<https://doi.org/10.2478/v10295-012-0024-5>
- Sumaryono, Muslihatin, W., & Ratnadewi, D. (2012). Effect of carbohydrate source on growth and performance of *in vitro* sago palm (*Metroxylon sagu* Rottb.) plantlets. *HAYATI Journal of Biosciences*, 19(2), 88–92.
<https://doi.org/10.4308/hjb.19.2.88>

- Syahid, S. F., & Bermawie, N. (2000). Pengaruh pengenceran media dasar terhadap pertumbuhan kultur jahe dalam penyimpanan secara *in vitro*. *Jurnal Penelitian Tanaman Industri*, 5(4), 115–118.
- Tahtamouni, R. W., Shibli, R. A., Al-Abdallat, A. M., Al-Qudah, T. S., Younis, L., Al-Baba, H., & Al-Ruwaiei, H. (2015). *In vitro* conservation and cryopreservation of plant genetic resources: A review. *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, 11(1), 372–382.
- Yung-Peng, D., Wen-Yuan, L., Ming-Fang, Z., Heng-Bin, H., & Gui-Xia, J. (2012). The establishment of a slow-growth conservation system *in vitro* for two wild lily species. *African Journal of Biotechnology*, 11(8), 1981–1990. <https://doi.org/10.5897/AJB11.2868>
- Zhang, M. F., & Jia, G. X. (2014). The effects of sucrose concentration and light condition on lily's bulbet-in-tube production and inclusion content. *Pakistan Journal of Botany*, 46(1), 307–315.
- Zhang, Y. J., Xie, Z. K., Wang, Y. J., & An, L. P. (2011). Changes in carbohydrate metabolism and bulb growth as induced by low-temperature release of dormancy in lily bulbs. *The Philippine Agricultural Scientist*, 94(2), 149–154.