



ISSN 0126-1754

Volume 8, Nomor 5, Agustus 2007

Terakreditasi

SK Kepala LIPI

Nomor 14/Akred-LIPI/P2MBI/9/2006

# Berita Biologi

Jurnal Ilmiah Nasional



Diterbitkan Oleh  
Pusat Penelitian Biologi - LIPI

**B**erita Biologi merupakan Jurnal Ilmiah Nasional yang dikelola oleh Pusat Penelitian Biologi-Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), untuk menerbitkan hasil karya-penelitian dan karya pengembangan, tinjauan kembali (review) dan ulasan topik khusus dalam bidang biologi. Disediakan pula ruang untuk menguraikan seluk beluk peralatan laboratorium yang spesifik dan dipakai secara umum, standard dan secara internasional. Juga uraian tentang metode-metode berstandar baku dalam bidang biologi, baik laboratorium, lapangan maupun pengolahan koleksi biodiversitas. Kesempatan menulis terbuka untuk umum meliputi para peneliti lembaga riset, pengajar perguruan tinggi (dosen) maupun pekaryasiswa sarjana semua strata. Makalah harus dipersiapkan dengan berpedoman pada ketentuan-ketentuan penulisan yang tercantum dalam setiap nomor.

Diterbitkan 3 kali dalam setahun bulan April, Agustus dan Desember. Satu volume terdiri dari 6 nomor.

### **Surat Keputusan Ketua LIPI**

Nomor: 1326/E/2000, Tanggal 9 Juni 2000

### **Dewan Pengurus**

#### **Pemimpin Redaksi**

B Paul Naiola

#### **Anggota Redaksi**

Andria Agusta, Achmad Dinoto, Tukirin Partomihardjo, Hari Sutrisno

#### **Desain dan Komputerisasi**

Muhamad Ruslan

#### **Distribusi**

Budiarjo

#### **Sekretaris Redaksi/Korespondensi/Kearsipan**

(berlangganan dan surat-menyurat)

Enok

Ruswenti

Pusat Penelitian Biologi – LIPI  
Jl. Ir. H. Juanda 18, PO Box 208, Bogor, Indonesia  
Telepon (0251) 321038, 321041, 324616  
Faksimili (0251) 325854; 336538  
Email: [herbogor@indo.net.id](mailto:herbogor@indo.net.id)

Keterangan foto cover depan: *Biodiversitas Nepenthes (kantong semar), salah satu kekayaan hayati hutan hujan tropik Indonesia, sesuai makalah di halaman 335* (Foto: koleksi LIPI-M Mansur).



**LIPI**

# **Berita Biologi**

**Jurnal Ilmiah Nasional**

**ISSN 0126-1754**

Volume 8, Nomor 5, Agustus 2007

Terakreditasi A

SK Kepala LIPI

Nomor 14/Akred-LIPI/P2MBI/9/2006

**Diterbitkan oleh  
Pusat Penelitian Biologi - LIPI**

## KATA PENGANTAR

Hasil penelitian di bidang biologi oleh para peneliti kembali dikemas dalam Jurnal Berita Biologi Nomor 5 (Volume 8) ini. Studi keragaman genetik pada varietas lokal kacang hijau dimaksudkan untuk mendapatkan landasan pemuliaan sebagai langkah lanjut pengembangan salah satu komoditi penting Indonesia. Hasil studi menunjukkan adanya keragaman genetik yang cukup luas dari semua karakter kuantitatif yang diamati. Dalam bidang mikrobiologi dilaporkan hasil studi tentang pengayaan fosfat secara hayati melalui pemahaman lanjut komunitas mikroba pengakumulasi glikogen. Selain itu, dalam mikrobiologi pangan, dilaporkan hasil studi fermentasi kecap dengan menggunakan substrat dari beberapa jenis kacang-kacangan dengan ragi mutan, dilakukan untuk melihat kemungkinan penggunaan beberapa jenis kacang-kacangan sebagai bahan dasar untuk pembuatan kecap dengan menggunakan ragi yang berkualitas sebagai stater. Mikrobiologi lingkungan melaporkan hasil studinya tentang akumulasi amonia di perairan yang dipandang sangat berbahaya, diantisipasi dengan studi proses nitrifikasi oleh kultur mikroba untuk upaya pengendaliannya.

Keberadaan dan fungsi kumbang tinja Scarabaeidae (*scarabaeids dungbeetles*) dipandang komponen sangat penting dalam ekosistem hutan tropis; merupakan jenis kunci (*keystone species*), berfungsi sebagai perombak materi organik yang berupa tinja satwa liar (terutama mamalia), burung dan reptil (siklus hara). Juga sebagai penyebar pupuk alam, membantu aerasi tanah, pengontrol parasit dan penyerbuk bunga Araceae. Hasil studi keanekaragamannya di Hutan Taman Nasional Gunung Gede-Pangrango, dilaporkan peneliti zoologi.

Di bidang botani, selain studi genetika kacang hijau tersebut di atas, tentang tumbuhan obat dilaporkan hasil studi secara *in vitro* pertumbuhan dan perkembangan *Typhonium* (keladi tikus). Pengaruh media dasar terhadap perkembangan embrio somatik kultur meristem jahe juga dijadikan topik riset, dan dilaporkan bahwa pengaruh media dasar yang signifikan terhadap proliferasi kalus embriogenik, dan pendewasaan embrio somatik pada kultur meristem jahe. Demikian pula keanekaragaman genetik jenis tumbuhan obat tradisional, bahan bangunan dan furnitur pulai (*Alstonia scholaris* (L.) R.Br.) dipelajari pula, di mana hasil dendrogram memisahkan 2 klaster yang mengindikasikan adanya pemisahan individu ke dalam kelompok berbeda. Sementara itu, studi keanekaragaman suku Pandanaceae di kawasan Taman Nasional Lore Lindu (Poso, Sulawesi Tengah) juga dilaporkan sebagai rekor khusus, menemukan 6 jenis di kawasan itu. Buah merah (*Pandanus conoideus* Lamarck) dijadikan sebagai kasus dalam kajian etnotaksonomi di kalangan masyarakat tradisional Pegunungan Arfak, Papua, dan menemukan bahwa sistem tata nama buah merah sepadan dengan sistem tata nama ilmiah tumbuhan, sehingga kearifan lokal ini dapat merupakan alternatif dalam pemecahan masalah dalam taksonomi formal (taksonomi tumbuhan). Keanekaragaman *Nepenthes* (kantong semar) di Kalimantan Tengah diungkapkan sebagai salah satu kekayaan biodiversitas Indonesia, dan pesona keragaman tumbuhan karnivora ini kami angkat sebagai maskot cover nomor ini.

Selamat membaca!

Salam iptek,

Redaksi

### Ketentuan-ketentuan untuk Penulisan dalam Berita Biologi

1. Karangan ilmiah asli, *hasil penelitian* dan belum pernah diterbitkan atau tidak sedang dikirim ke media lain.
2. Bahasa Indonesia. Bahasa Inggris dan asing lainnya, dipertimbangkan.
3. Masalah yang diliput, diharapkan aspek “baru” dalam bidang-bidang
  - Biologi dasar (*pure biology*), meliputi turunan-turunannya (mikrobiologi, fisiologi, ekologi, genetika, morfologi, sistematik dan sebagainya).
  - Ilmu serumpun dengan biologi: pertanian, kehutanan, peternakan, perikanan air tawar dan biologi kelautan, agrobiologi, limnologi, agro bioklimatologi, kesehatan, kimia, lingkungan, agroforestri. *Aspek/pendekatan biologi* harus tampak jelas.
4. Deskripsi masalah: harus jelas adanya tantangan ilmiah (*scientific challenge*).
5. Metode pendekatan masalah: standar, sesuai bidang masing-masing.
6. Hasil: hasil temuan harus jelas dan terarah.
7. Kerangka karangan: standar.  
*Abstrak* dalam bahasa Inggris, maksimum 200 kata, spasi tunggal, ditulis miring, isi singkat, padat yang pada dasarnya menjelaskan masalah dan hasil temuan. *Hasil dipisahkan dari Pembahasan*.
8. Pola penyiapan makalah: spasi ganda (kecuali abstrak), pada kertas berukuran A4 (70 gram), maksimum 15 halaman termasuk gambar/foto; pencantuman Lampiran seperlunya.  
Gambar dan foto: harus bermutu tinggi, gambar pada kertas kalkir (bila manual) dengan tinta cina, berukuran kartu pos; foto berwarna, sebutkan programnya bila dibuat dengan komputer.
9. Kirimkan 2 (dua) eksemplar makalah ke Redaksi (alamat pada cover depan-dalam) yang ditulis dengan program Microsoft Word 2000 ke atas. Satu eksemplar tanpa nama dan alamat penulis (-penulisnya). Sertakan juga copy file dalam CD (bukan disket), untuk kebutuhan Referee secara elektronik. Jika memungkinkan, kirim juga filenya melalui alamat elektronik (E-mail) Berita Biologi: [herbogor@indo.net.id](mailto:herbogor@indo.net.id).
10. Cara penulisan sumber pustaka: tuliskan nama jurnal, buku, prosiding atau sumber lainnya selengkap mungkin; sedapat-dapatnya tidak disingkat. Nama inisial pengarang tidak perlu diberi tanda titik pemisah.
  - a. Jurnal  
**Premachandra GS, Saneko H, Fujita K and Ogata S. 1992.** Leaf Water Relations, Osmotic Adjustment, Cell Membrane Stability, Epicuticular Wax Load and Growth as Affected by Increasing Water Deficits in Sorghum. *Journal of Experimental Botany* **43**, 1559-1576.
  - b. Buku  
**Kramer PJ. 1983.** *Plant Water Relationship*, 76. Academic, New York.
  - c. Prosiding atau hasil Simposium/Seminar/Lokakarya dan sebagainya  
**Hamzah MS dan Yusuf SA. 1995.** Pengamatan beberapa aspek biologi Sotong Buluh (*Sepioteuthis lessoniana*) di sekitar perairan Pantai Wokam bagian barat, Kepulauan Aru, Maluku Tenggara. *Prosiding Seminar Nasional Biologi XI*, Ujung Pandang 20-21 Juli 1993, 769-777. M Hasan, A Mattimu, JG Nelwan dan M Litaay (Penyunting). Perhimpunan Biologi Indonesia.
  - d. Makalah sebagai bagian dari buku  
**Leegood RC and Walker DA. 1993.** Chloroplast and Protoplast. Dalam: *Photosynthesis and Production in a Changing Environment*. DO Hall, JMO Scurlock, HR Bohlar Nordenkampf, RC Leegood and SP Long (Eds), 268-282. Chapman and Hall. London.
11. Kirimkan makalah serta copy file dalam CD (lihat butir 9) ke Redaksi. Sertakan alamat Penulis yang jelas, juga meliputi nomor telepon (termasuk HP) yang mudah dan cepat dihubungi dan alamat elektroniknya.



Berita Biologi menyampaikan terima kasih kepada  
para penilai (referee) Nomor ini

***DM Puspitaningtyas*** – Pusat Konservasi Tumbuhan, Kebun Raya Bogor -LIPI

***HD Ariesyadi*** – Fakultas Teknik dan Lingkungan-Institut Teknologi Bandung

***H Simbolon*** – Pusat Penelitian Biologi-LIPI

***H Yulistiyono*** – Pusat Penelitian Biologi-LIPI

***IN Sujaya*** – Universitas Udayana

***Irawati*** – Pusat Konservasi Tumbuhan, Kebun Raya Bogor –LIPI

***JR Witono*** – Pusat Konservasi Tumbuhan, Kebun Raya Bogor –LIPI

***M Amir*** – Pusat Penelitian Biologi-LIPI

***R Ubaidillah*** – Pusat Penelitian Biologi-LIPI

***Rugayah*** – Pusat Penelitian Biologi-LIPI

***YS Poerba*** – Pusat Penelitian Biologi-LIPI

## DAFTAR ISI

<b>GENETIC VARIABILITY AND HERITABILITY ESTIMATE OF QUANTITATIVE CHARACTERS IN LOCAL MUNGBEAN (<i>Vigna radiate</i> (L.) Wilczek) VARIETIES</b> <b>Keragaman Genetik dan Dugaan Heritabilitas Karakter Kuantitatif pada Varietas Lokal Kacang Hijau (<i>Vigna radiata</i> (L.) Wilczek)</b> <i>Lukman Hakim</i> .....	311
<b>KOMUNITAS MIKROBA PENGAKUMULASI GLIKOGEN</b> <b>[The Community of Glycogen Accumulating Microbe]</b> <i>Dyah Supriyati, Rita Dwi Rahayu dan Hartati Imamuddin</i> .....	319
<b>KERAGAMAN DAN DISTRIBUSI VERTIKAL KUMBANG TINJA SCARABAEIDS (Coleoptera: Scarabaeidae) DI HUTAN TROPIS BASAH PEGUNUNGAN TAMAN NASIONAL GEDE-PANGRANGO, JAWA BARAT</b> <b>[Diversity and Vertical Distributions of Scarabaeids Dungbeetles (Coleoptera: Scarabaeidae) in the Tropical Mountainous Rainforest of Gede-Pangrango National Park, West Java]</b> <i>Sih Kahono</i> .....	325
<b>KEANEKARAGAMAN JENIS <i>Nepenthes</i> (KANTONG SEMAR) DATARAN RENDAH DI KALIMANTAN TENGAH</b> <b>[Diversity of Lowland <i>Nepenthes</i> (Kantong Semar) in Central Kalimantan]</b> <i>Muhammad Mansur</i> .....	335
<b>PENGARUH MEDIA DASAR MS DAN N<sub>6</sub> TERHADAP PERKEMBANGAN EMBRIO SOMATIK PADA KULTUR MERISTEM JAHE (<i>Zingiber officinale</i> Rosc.)</b> <b>[The Effect of MS and N<sub>6</sub> Basal Media to Somatic Embryo Development in Meristematic Culture of Ginger (<i>Zingiber officinale</i> Rosc.)]</b> <i>Oti Rostiana dan Sitti Fatimah Syahid</i> .....	343
<b>STUDI KERAGAMAN GENETIK <i>Alstonia scholaris</i> (L.) R.Br. BERDASARKAN MARKA RANDOM AMPLIFIED POLYMORPHIC DNA</b> <b>[Study on Genetic Diversity of <i>Alstonia scholaris</i> (L.) R.Br. Using Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Markers]</b> <i>Yuyu Suryasari Poerba</i> .....	353
<b>FERMENTASI KECAP DARI BEBERAPA JENIS KACANG-KACANGAN DENGAN MENGGUNAKAN RAGI BARU <i>Aspergillus</i> sp. K-1 DAN <i>Aspergillus</i> sp. K-1A</b> <b>[Fermentation of kecap (soy sauce) from different kind of beans by Using Improved Inoculum <i>Aspergillus</i> sp. K-1 and <i>Aspergillus</i> sp. K-1a]</b> <i>Elidar Naiola dan Yati Sudaryati Soeka</i> .....	365
<b>REKAMAN BARU PANDANACEAE, DI PEGUNUNGAN SEKITAR DESA SEDOA, TAMAN NASIONAL LORE LINDU, SULAWESI TENGAH</b> <b>[New Records on Pandanaceae from Mountainous Area, Sedoa Village, Lore Lindu National Park, Central Celebes]</b> <i>Ary Prihardhyanto Keim dan Himmah Rustiami</i> .....	375
<b>KAJIAN ETNOTAKSONOMI <i>Pandanus conoideus</i> Lamarck UNTUK MENJEMBATANI PENGETAHUAN LOKAL DAN ILMIAH</b> <b>[The Ethnotaxonomical study of Red Pandan (<i>Pandanus conoideus</i> Lamarck) to Link the Local Wisdom and Scientific Knowledge]</b> <i>Eko Baroto Waluyo, Ary Prihardhyanto Keim dan Maria Justina S.</i> .....	391

<b>PROSES NITRIFIKASI OLEH KULTUR MIKROBA PENITRIFIKASI N-Sw DAN ZEOLIT</b> <b>[Nitrification by Mix Culture of Nitrifying Bacteria N-Sw and Zeolite]</b> <i>Dwi Agustiyani, Hartati Imamuddin, Edi Gunawan dan Latifah K Darusman</i> .....	405
<b>PERTUMBUHAN DAN PERKEMBANGAN TUNAS <i>Typhonium</i> SECARA IN VITRO</b> <b>[Shoots Growth and Development of <i>Typhonium</i> by In Vitro Technique]</b> <i>Djadja Siti Hazar Hoesen</i> .....	413



**PENGARUH MEDIA DASAR MS DAN N<sub>6</sub> TERHADAP PERKEMBANGAN EMBRIO SOMATIK PADA KULTUR MERISTEM JAHE (*Zingiber officinale* Rosc.)**  
**[The Effect of MS and N<sub>6</sub> Basal Media to Somatic Embryo Development in Meristem Culture of Ginger (*Zingiber officinale* Rosc.)]**

**Oti Rostiana✉ dan Sitti Fatimah Syahid**  
Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik  
Jalan Tentara Pelajar No. 3 Bogor 16111

**ABSTRACT**

This study was performed to evaluate the development of somatic embryo from embryogenic calli of ginger meristem culture. Completely randomized design was applied, replicated 4 times. Embryogenic calli from meristem tissue of inner shoot bud of rhizome obtained on MS medium containing 100 mg/L glutamine, 2% sucrose with the addition of 1.0 mg/L 2,4-D and 3.0 mg/L BA, were subjected to proliferation medium, MS and N<sub>6</sub> basal media containing 3% mannitol. Then, transferred into somatic embryo maturation medium, either MS or N<sub>6</sub> basal media supplemented with 6% sucrose. The number of somatic embryos-formed significantly affected by the proliferation medium applied. The highest number of somatic embryos (about 82.0 per 1 g friable calli) was achieved on the MS medium, 4 weeks after incubation. In addition, the optimum growth of embryogenic calli containing somatic embryos was obtained on MS and N<sub>6</sub> medium supplemented with 6% sucrose. There were significantly difference between the media applied (MS and N<sub>6</sub>) to somatic embryos maturation. The highest number of mature somatic embryos (57.2 embryos) was achieved on the MS medium, 18 days after incubation.

**Kata kunci:** *Zingiber officinale*, kultur meristem, proliferasi kalus, embrio somatik, medium MS, medium N<sub>6</sub>.

**PENDAHULUAN**

Jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) merupakan salah satu komoditas ekspor dan di dalam negeri digunakan untuk bahan baku obat tradisional maupun fitofarmaka. Komoditas ini juga berperan cukup berarti dalam penyerapan tenaga kerja dan penerimaan devisa negara. Dalam sepuluh tahun terakhir, ekspor jahe dari Indonesia berupa rimpang jahe segar, jahe kering, acar jahe (pikel), dan minyak atsiri, berfluktuasi sangat tajam.

Pasokan jahe di pasaran dunia saat ini dikuasai oleh India (50% dari kebutuhan dunia), sedangkan Indonesia baru mampu mengekspor sebesar 34.564 ton dengan nilai US\$ 18.039.000 pada tahun 1997. Ekspor jahe tahun 2000 meningkat menjadi 43.192 ton, tetapi karena harganya menurun maka perolehan devisa hanya senilai US\$ 14.120.000 (BPS, 2003). Tahun 2002, ekspor jahe mengalami penurunan drastis hanya 7.471 ton dengan nilai US\$ 4.029.000 (Ditjenbun, 2004). Pada tahun 2004, produksi jahe nasional (104.789 ton) mengalami penurunan sebesar 20.597 ton jika dibandingkan tahun 2003 (125.386 ton). Penurunan produksi tersebut disebabkan oleh turunnya produksi di sentra pengembangan jahe utama di Jawa Barat (BPS, 2004) akibat serangan organisme pengganggu tanaman (OPT) dan budidaya yang kurang optimal.

Untuk mengantisipasi hal tersebut, sangat penting bagi petani dan penangkar benih untuk menggunakan bahan tanaman (benih) bermutu dari varietas yang sudah dirilis, bersertifikat, bebas OPT dan penerapan teknik budidaya anjuran yang dapat meningkatkan produktivitas tanaman. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat sudah melepas 1 varietas unggul jahe (Cimanggu-1) dengan produksi rata-rata 2 kg/rumpun. Namun, varietas tersebut rentan terhadap penyakit layu bakteri yang disebabkan oleh *Ralstonia solanacearum*, padahal penyakit tersebut merupakan OPT utama yang dapat menggagalkan hasil dan sulit ditanggulangi karena di samping menyerang jahe, juga dapat menyerang tanaman temu-temuan lainnya seperti kunyit dan kencur dan sayuran (tomat dan cabe), serta beberapa macam gulma (Supriadi *et al.*, 1995). Hal ini mengindikasikan bahwa isolat *R. solanacearum* dari jahe mempunyai kisaran inang yang cukup luas. Serangan penyakit layu bakteri pada jahe semakin meluas akibat penggunaan benih yang sudah mengandung *R. solanacearum*.

Perbanyak tanaman melalui teknik kultur jaringan berpeluang untuk mendukung upaya pengadaan benih sumber bebas patogen dalam jumlah banyak. Perbanyak jahe melalui kultur jaringan, baik

melalui induksi tunas langsung maupun fase kalus dengan menggunakan sumber eksplan vegetatif telah berhasil dilakukan (Mariska dan Syahid, 1992). Untuk produksi bibit melalui kultur jaringan, pembentukan benih somatik dari embrio somatik dapat menghasilkan bibit yang jauh lebih banyak daripada hasil regenerasi melalui organogenesis. Di samping itu dalam perbaikan tanaman melalui kultur *in vitro* dan melalui rekayasa genetik, regenerasi melalui jalur embriogenesis somatik lebih disukai karena dapat berasal dari satu sel sehingga kepastian hasil perbaikan sifat genetik lebih tinggi. Secara umum dinyatakan bahwa tanaman yang dihasilkan melalui proses embriogenesis somatik atau dari kultur meristem merupakan klon yang identik dengan induknya (Evans dan Sharp, 1986; Jimenez, 2001), meskipun beberapa perbedaan akan ditemukan tergantung dari jenis tanamannya. Induksi embrio somatik pada tanaman kehutanan *Picea abies*, terbukti menghasilkan tanaman baru yang identik dengan induknya (Heinze dan Schmidt, 1995).

Keberhasilan menginduksi embriogenesis somatik dipengaruhi oleh tipe eksplan serta formulasi media tumbuh. Jaringan meristematik seperti mata tunas, anther/pollen, epi dan hipokotil memberikan tingkat keberhasilan lebih tinggi untuk pembentukan sel-sel embrioid (Mariska, 1997). Kultur meristem jahe putih besar var. Cimanggu-1 menggunakan medium dasar Murashige & Skoog (MS) dengan penambahan 1,0 mg/L 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) dan 3,0 mg/L N<sup>6</sup>-benzyladenin (BA) berhasil menginduksi kalus embriogenik (93,3%), 8 minggu setelah kultur (Sitinjak *et al.*, 2006). Pada tanaman jagung, induksi embriogenesis somatik berhasil dilakukan dengan penggunaan medium dasar N<sub>6</sub> dengan penambahan 2,4-D (Fransz dan Schel, 1991). Demikian juga halnya pada jenis-jenis sereal lain serta kelompok monokotil. Sedangkan pada tanaman dikotil berumbi seperti kentang (Torres *et al.*, 2001), untuk menginduksi embriogenesis somatik digunakan medium dasar MS. Hal yang sama juga ditemukan pada induksi embriogenesis somatik tanaman kencur (Rahman *et al.*, 2004), temu kunci (Tan *et al.*, 2005) serta kultur suspensi sel jahe asal eksplan tunas dari genotipe LZ, CH, ZY dan ZG (Guo dan Zhang, 2005).

Perbedaan komposisi medium dasar yang digunakan, akan berpengaruh terhadap aktivitas fisiologis sel. Oleh karena itu, di dalam penelitian ini, penggunaan dua jenis medium dasar (MS dan N<sub>6</sub>) diuji untuk melihat efektivitasnya dalam menunjang proliferasi kalus embriogenik dan perkembangan embrio somatik pada kultur meristem jahe.

## BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan adalah meristem (*inner shoot bud*) jahe putih besar var. Cimanggu-I, dari tunas aksiler yang berumur 3 minggu, media dasar MS (Murashige dan Skoog, 1962) dan N<sub>6</sub> (Chu *et al.*, 1975), aquades steril, zat pengatur tumbuh (ZPT) 2,4-D, BA, L-glutamin, sukrosa, manitol, HgCl<sub>2</sub>, agar, etanol 70%, formalin, asam asetat, glutaraldehid 5%, betadine, paraffin, etil alkohol, xylen, haematoxylin.

Induksi kalus menggunakan eksplan meristem dilakukan di dalam medium dasar MS padat (0,8% agar) dengan penambahan 1,0 mg/L 2,4-D + 3,0 mg/L BA, 2% sukrosa dan 100 mg/L glutamin (Sitinjak *et al.*, 2006).

Kalus embriogenik yang terbentuk disubkultur ke dalam medium proliferasi yang terdiri dari 2 jenis medium dasar perlakuan, yaitu medium dasar MS dan N<sub>6</sub> dengan penambahan 3% manitol (3M) tanpa ZPT. Embrio somatik yang terbentuk, kemudian disubkultur ke dalam medium pendewasaan, yaitu MS dan N<sub>6</sub> dengan penambahan 6% sukrosa (6S). Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap dengan 4 ulangan untuk setiap perlakuan.

Parameter yang diamati adalah periode perkembangan embrio somatik dan persentase embrio somatik bentuk globular dalam 1 (satu) g kalus embriogenik. Pengamatan pada pembentukan embrio somatik dilakukan setiap minggu, disertai dengan penghitungan jumlah embrio somatik globular yang telah terbentuk dan melekat pada permukaan kalus non-embriogenik. Pada tahap pendewasaan embrio somatik, parameter yang diamati adalah periode perkembangan embrio torpedo dan persentase embrio somatik yang telah mencapai embrio torpedo (sklutelar). Pengamatan embrio somatik yang dewasa dilakukan setiap 4 hari dengan menghitung jumlah embrio somatik tersebut.

Analisis histologi terhadap sumber sel embriogenik dan anatomi embrio somatik dari kultur

meristem, dilakukan pada tiap tahap perkembangan embrio somatik. Sampel diambil dari dalam medium, lalu difiksasi dalam larutan formalin, asam asetat glasial, dan etil alkohol 50% (FAA). Kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama satu malam. Lalu didehidrasi dalam seri etil alkohol-xylen. Setelah itu diinfiltirasi dalam xylen dan solid-paraffin. Kemudian diinkubasi pada suhu 56-58°C selama satu minggu. Lalu spesimen tersebut dipotong (tebal 8 µm) dengan mikrotom putar dan diwarnai dengan larutan toluidine blue (Sass, 1951). Akhirnya diletakkan pada kaca preparat untuk diamati dengan mikroskop.

Data hasil pengamatan terhadap proliferasi dan pendewasaan embrio somatik dianalisis dengan menggunakan uji-T. Nilai T dihitung berdasarkan Furlong *et al.* (2000):

$$t = \frac{\bar{d} - d_0}{s_d / \sqrt{n}}$$

Keterangan :  $\bar{d} = \Sigma d_i / n$

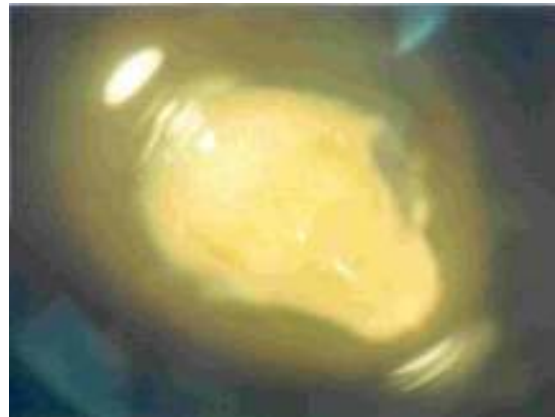
$$S_d^2 = \frac{(n)(\Sigma d_i^2) - (\Sigma d_i)^2}{n \cdot (n-1)}$$

n = jumlah umur kultur (nilai pasangan)

## HASIL

Kalus embriogenik dari medium induksi disubkultur ke dalam medium MS dan N<sub>6</sub> yang ditambahkan 3% manitol untuk memperoleh embrio somatik globular terbaik. Pada minggu ke-1 pembentukan embrio sudah terlihat, ditandai dengan warna putih bening kekuningan (transparan) dan menunjukkan bagian dinding luar permukaan halus dan mengkilat serta melekat pada kalus non-embriogenik yang ditandai dengan adanya bintik-bintik coklat muda yang menyebar di permukaan embrio tersebut. Embrio tumbuh dan berkembang dengan bentuk bulat besar atau oval dan ada juga berbentuk bulat kecil atau memanjang atau tidak berbentuk. Bentuk embrio yang umum ditemukan adalah bulat dan oval (Foto 1).

Tabel 1 memperlihatkan bahwa, pada minggu ke-2 jumlah embrio globular semakin bertambah pada kedua medium proliferasi. Jumlah embrio somatik terbanyak diperoleh 4 minggu setelah kultur, baik pada



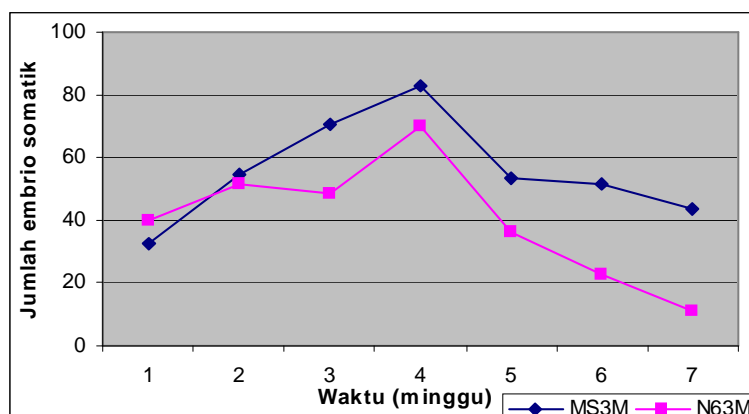
**Foto 1.** Bentuk umum embrio somatik jahe berumur 4 minggu pada medium proliferasi (pembesaran 10x3).

**Tabel 1.** Jumlah embrio somatik pada kultur meristem jahe di dalam media dasar MS dan N<sub>6</sub>

Waktu (minggu)	Rata-rata jumlah embrio somatik per 1 g kalus embriogenik	
	MS3M	N <sub>6</sub> 3M
1	32,75 ± 11,97	39,75 ± 5,31
2	54,50 ± 20,16	51,50 ± 9,66
3	70,50 ± 31,97	48,75 ± 15,16
4	82,00 ± 12,25	70,00 ± 19,26
5	53,75 ± 16,32	36,25 ± 9,28
6	51,50 ± 10,92	22,75 ± 15,28
7	43,50 ± 19,55	11,00 ± 7,65

medium MS (82,00 ± 12,25 embrio/1 g kalus embriogenik) maupun pada medium N<sub>6</sub> (70,00 ± 19,26 embrio/1 g kalus embriogenik).

Uji statistik menunjukkan bahwa jenis media tumbuh berpengaruh nyata terhadap proliferasi embrio somatik pada kultur meristem jahe (P<sub>0,05</sub>). Proliferasi embrio somatik pada medium MS lebih tinggi dibandingkan pada medium N<sub>6</sub>. Pada minggu ke-4, warna bintik-bintik hitam kecoklatan pada embrio semakin nampak jelas dan menyebar lebih banyak, disertai berbagai macam bentuk embrio. Setelah 4 – 7 minggu kultur, jumlah embrio globular baik pada medium



**Grafik 1.** Jumlah embrio somatik pada kultur meristem jahe di dalam medium proliferasi

MS maupun pada medium  $N_6$  menurun secara perlahan (Grafik 1), disertai dengan terbentuknya akar.

Uji histologi terhadap massa sel embriogenik menunjukkan bahwa, embrio globular terbentuk pada medium proliferasi, 2 minggu setelah kultur (Foto 2). Struktur embrio somatik yang terinduksi berasal dari jaringan korteks.

Embrio somatik yang berproliferasi di dalam medium MS yang mengandung 3% manitol, berkembang menjadi embrio somatik dewasa pada medium MS dan  $N_6$  yang mengandung 6% sukrosa. Pada hari ke-2 setelah kultur, embrio somatik pada kedua medium pendewasaan mulai menunjukkan pemanjangan yang secara morfologi berbentuk silindris. Embrio mulai mengalami penonjolan membentuk 2 kutub yang berbeda. Kutub yang satu terdiri dari 1 tonjolan lebih melebar, yang akan berdiferensiasi membentuk kotiledon dan tunas apikal, sementara kutub yang lain akan berdiferensiasi membentuk akar. Tabel 2 menunjukkan bahwa pada medium MS telah terbentuk embrio torpedo sebanyak  $10,60 \pm 4,76$  embrio/1 g kalus embriogenik, sementara pada medium  $N_6$   $11,40 \pm 5,68$  embrio/1 g kalus embriogenik, 2 hari setelah subkultur.

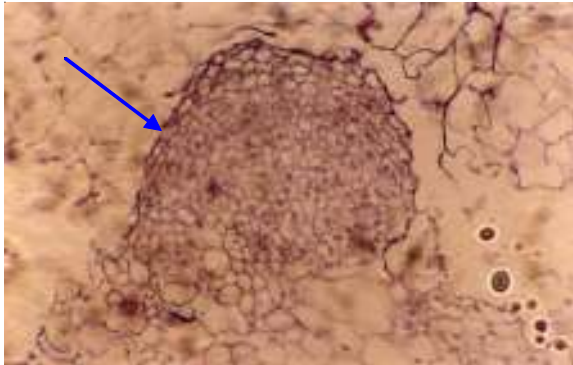
Pendewasaan embrio ini diiringi dengan pertumbuhan bulu-bulu halus di permukaan embrio, serta bintik hitam kecoklatan yang semakin rapat dan jelas. Pada hari ke-10, jumlah embrio torpedo mencapai jumlah tertinggi yaitu  $44,20 \pm 14,13$  embrio pada medium  $N_6$ . Sedangkan pada medium MS, jumlah embrio

torpedo mencapai jumlah tertinggi pada hari ke-18 ( $57,20 \pm 15,99$  embrio). Hal ini menunjukkan bahwa medium MS lebih efektif untuk memperoleh jumlah embrio torpedo, daripada  $N_6$ , meskipun diperlukan waktu sedikit lebih lama dibandingkan dengan medium  $N_6$ . Setelah 18 hari kultur, jumlah embrio dewasa mulai menurun (Grafik 2).

Embrio somatik yang dewasa (seperti pada Foto 3 A) ada yang memiliki kemampuan membentuk struktur bipolar, yaitu kutub tunas dan akar, dan ada yang hanya mampu membentuk struktur unipolar. Namun sebagian

**Tabel 2.** Jumlah embrio somatik dewasa pada kultur meristem jahe di dalam media dasar MS dan  $N_6$

No	Umur (Hari)	Rataan jumlah embrio somatik dewasa per 1 g kalus embriogenik	
		MS 6S	$N_6$ 6S
1	2	$10,60 \pm 4,76$	$11,40 \pm 5,68$
2	6	$33,40 \pm 6,74$	$31,20 \pm 4,35$
3	10	$55,80 \pm 12,73$	$44,20 \pm 14,13$
4	14	$38,60 \pm 6,53$	$26,80 \pm 5,11$
5	18	$57,20 \pm 15,99$	$33,20 \pm 7,52$
6	22	$45,80 \pm 10,50$	$26,80 \pm 7,76$
7	26	$28,00 \pm 8,65$	$22,20 \pm 6,52$
8	30	$16,20 \pm 8,91$	$12,20 \pm 4,99$

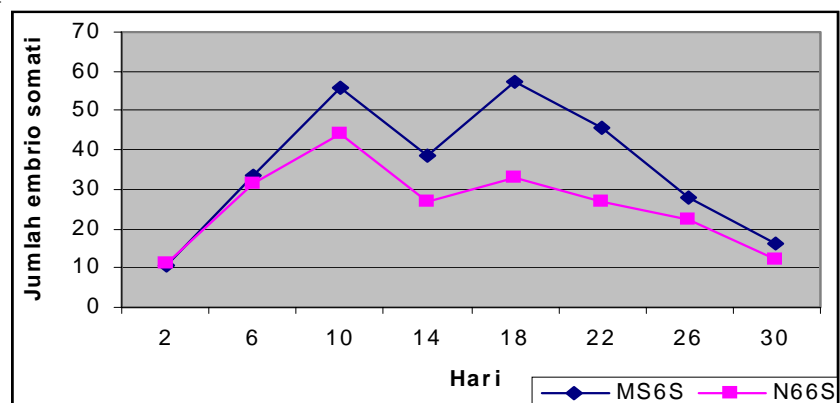


**Foto 2.** Embrio globular 2 minggu setelah proliferasi (pembesaran 10 x 4). Tanda panah menunjukkan lapisan protoderm yang mulai berdiferensiasi.

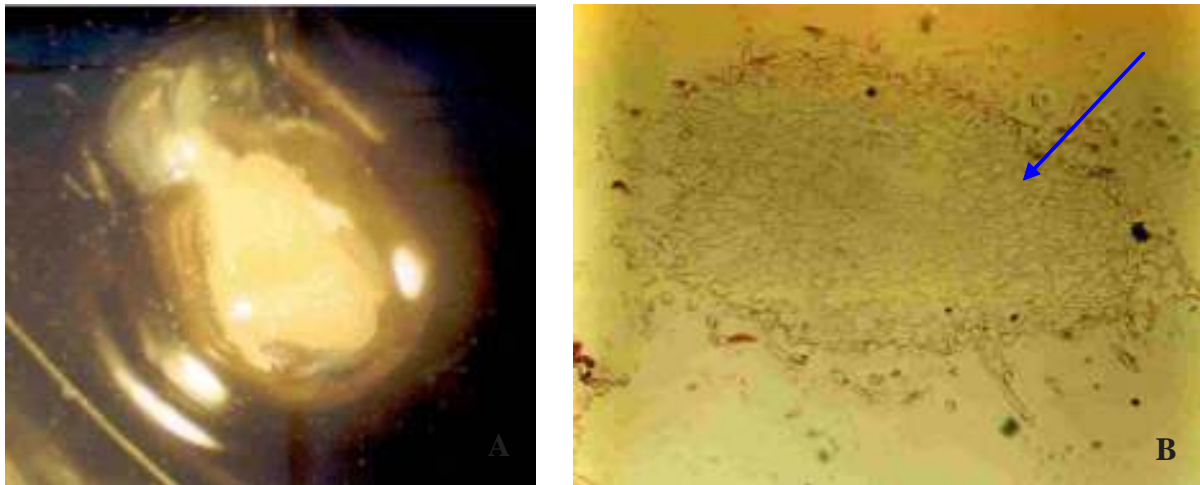
besar dari embrio dewasa menunjukkan struktur pembentukan bakal meristem apikal akar lebih menonjol, bila dibandingkan dengan pembentukan bakal meristem apikal tunasnya.

Uji statistik menunjukkan bahwa jenis media tumbuh berpengaruh nyata terhadap pendewasaan embrio somatik pada kultur meristem jahe ( $P_{0,05}$ ). Jumlah embrio torpedo yang diperoleh dalam medium MS 1,29 kali lebih tinggi dibandingkan pada medium  $N_6$ . Hal ini menunjukkan bahwa medium MS lebih efektif untuk membentuk embrio torpedo.

Uji histologi menunjukkan bahwa pada tahap pendewasaan, embrio somatik berkembang hingga bentuk torpedo. Penampang memanjang menunjukkan bahwa pada embrio sudah terbentuk satu ujung apikal







**Foto 3.** **A.** Morfologi embrio torpedo umur 18 hari pada medium pendewasaan (pembesaran 10 x 1). **B.** Embrio torpedo berumur 18 hari pada medium pendewasaan (tanda panah menunjukkan prokambium yang menghubungkan meristem apikal akar dengan skutelum telah berdiferensiasi) (pembesaran 10 x 4).

sangat tinggi. Namun  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  dan kasein hidrolisat tidak terkandung dalam medium MS, tetapi terkandung dalam medium  $\text{N}_6$  dalam konsentrasi tinggi. Jadi berdasarkan data yang diperoleh, untuk mendapatkan jumlah dan kecepatan tumbuh serta diferensiasi embrio somatik pada jahe, diperlukan medium yang mengandung larutan garam relatif tinggi. Hal ini sejalan dengan pernyataan Narayanaswamy (1990) bahwa untuk inisiasi embriogenesis somatik diperlukan konsentrasi garam ( $\text{KNO}_3$  dan  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ) yang tinggi. Meskipun demikian, Talwar dan Rashid (1989) memberikan pernyataan yang berbeda bahwa ammonium merupakan penghambat diferensiasi embrio somatik pada tanaman Graminae. Sedangkan Guo dan Zhang (2005), menyatakan bahwa konsentrasi ammonium di dalam medium MS yang direduksi meningkatkan embriogenesis somatik pada kultur suspensi sel jahe asal eksplan tunas dari empat genotipe. Demikian juga Adkins *et al.* (2002) berpendapat bahwa nitrogen reduksi tidak esensial untuk induksi embrio somatik. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa larutan garam ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ) yang relatif tinggi diduga merupakan stimulator untuk diferensiasi embrio somatik pada kultur meristem jahe.

Menurut George (1993) untuk menghasilkan pro-embrio, pertumbuhan dan perkembangan sel-sel embriogenik membutuhkan medium yang mengandung

nitrogen reduksi dan oksidasi. Namun untuk perkembangan selanjutnya, embrio membutuhkan medium yang mengandung sejumlah nitrogen reduksi (Bhojwani dan Razdan, 1996). Oleh karena itu, lingkungan kultur medium MS yang kaya unsur makro, terutama nitrogen termasuk ion nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) dan amonium ( $\text{NH}_4^+$ ), sukrosa dan vitamin tertentu, sesuai untuk memenuhi kebutuhan metabolisme sel dalam pertumbuhan dan perkembangan embrio somatik dari kultur meristem jahe.

Pada umumnya, untuk meneruskan pertumbuhan dan diferensiasi globular selain larutan garam juga diperlukan 8-12% sukrosa (Raghavan, 2003). Menurut Anbazhagan dan Ganapathi (1999) 3% sukrosa adalah karbohidrat yang sangat efektif untuk memperbaiki frekuensi diferensiasi embrio somatik. Manitol (3%) yang ditambahkan ke dalam medium dasar, pada kultur meristem jahe, berfungsi sebagai senyawa pengatur potensi osmotik. Sehingga penambahan 3% manitol ke dalam medium tersebut diduga mampu mengendalikan tekanan osmotik dalam medium dan dapat mempengaruhi kecepatan pembelahan sel serta menstimulasi proses morfogenesis sel embriogenik meristem jahe. Penambahan manitol menyebabkan potensi osmotik dalam medium meningkat, sehingga mengakibatkan air masuk ke dalam sel (George dan Sherrington, 1984).

Menurut Torres *et al.* (2001) kesinkronan perkembangan embrio serta kuantitasnya dapat ditingkatkan di dalam medium MS yang ditambahkan manitol. Hasil yang sama diperoleh pada perkembangan embrio somatik dari tanaman pepaya, seledri dan alfalfa (Ziv, 1999), serta jagung (Bronsema *et al.*, 1997). Jadi manitol selain sebagai sumber energi, juga mampu menjaga potensi embriogenik kalus.

Proses pendewasaan embrio somatik, baik pada medium MS maupun medium N<sub>6</sub> yang mengandung 6% sukrosa, ditandai dengan munculnya bulu-bulu halus, bintik-bintik hitam kecoklatan, dan perubahan warna pada embrio. Bintik-bintik hitam kecoklatan yang merupakan salah satu indikator pendewasaan embrio diduga merupakan suatu substansi aktif (seperti amilum, protein dan lemak) yang disekresi embrio somatik untuk mengatasi tekanan yang disebabkan perubahan antara diferensiasi sel dan jaringan dengan kondisi atau komposisi medium yang dibutuhkan untuk proses pertumbuhan dan perkembangan embrio tersebut. Sekresi senyawa organik tersebut semakin meningkat seiring dengan proses desikasi menuju ke tahap perkecambahan. Substansi tersebut berada di sekitar sel-sel berkas vaskuler, yang berperan sebagai indikator awal perkembangan jaringan embriogenik menjadi embrio somatik (Bach dan Pawlowska, 2003). Perkembangan kalus embriogenik berhubungan dengan tipe dan jumlah protein-protein intraselluler dalam sel-sel kalus (Oropeza *et al.*, 2001). Jadi proses pendewasaan embrio somatik yang berproliferasi dari kalus embriogenik kultur meristem jahe juga berhubungan dengan tipe dan jumlah substansi aktif dalam sel-sel embriogenik tersebut.

Embrio somatik yang dewasa, ada yang tumbuh dan berkembang secara normal, ada juga yang berkembang secara abnormal (yang memiliki kotiledon lebih dari satu dan tidak menunjukkan perkembangan yang sesuai dibandingkan dengan pertumbuhan akar). Jadi pada tahap pendewasaan dapat terlihat perubahan kemampuan embrio untuk menjadi dewasa dan berkembang ke tahap selanjutnya. Menurut Bronsema *et al.* (1997) embrio somatik yang dewasa adalah embrio yang telah membentuk sebuah skutelum, yaitu sebuah struktur seperti koleoptil dan bakal akar. Perubahan kemampuan embrio ini diduga berhubungan dengan

pengaruh 2,4-D eksogen yang diberikan pada tahap awal perkembangan embrio. Hal ini mempengaruhi kandungan auksin endogen, sehingga kandungan auksin yang cukup tinggi mempengaruhi proses diferensiasi dan perkembangan pada proses regenerasi. Embrio somatik torpedo dan kotiledonary secara visual dapat terlihat normal, tetapi secara internal abnormal (Padmanabhan *et al.*, 1998). Konsentrasi 2,4-D yang tinggi dalam medium induksi kalus dapat menghambat perkecambahan embrio somatik (Guerra dan Handro, 1998). Menurut El Hadrani *et al.* (1991) pengaruh positif dan negatif auksin dan sitokinin pada embriogenesis somatik, berhubungan dengan kandungan hormon endogen dari eksplan dan/ atau pada sensitivitas sel. Terjadinya perubahan kemampuan embrio somatik jahe mulai dari tahap proliferasi hingga ke pembentukan embrio koleoptiledonary, bahkan terbentuknya embrio somatik yang abnormal diduga akibat tingginya kandungan auksin endogen dalam sel embrio tersebut yang kemungkinan distimulasi oleh auksin eksogen pada tahap awal embriogenesis somatik. Penekanan perkembangan embrio yang diinduksi 2,4-D mungkin dimediasi oleh produksi etilen endogen (Davies, 1995). Menurut Dedicova *et al.* (2000) inisiasi meristem tunas sangat bergantung pada transpor polar auksin. Auksin sintetik yang digunakan seperti 2,4-D dapat menstimulasi akumulasi IAA endogen, namun subkultur ke dalam medium tanpa 2,4-D menimbulkan gradien internal untuk inisiasi dan pemeliharaan pertumbuhan yang terpolarisasi dan perkembangan embrio selanjutnya (Padmanabhan *et al.*, 1998).

Proses pendewasaan ini juga dipengaruhi oleh komposisi media tumbuh. Pada penelitian ini, rata-rata jumlah embrio dewasa yang diperoleh dalam medium MS lebih tinggi dibandingkan dalam medium N<sub>6</sub>, baik pada awal maupun akhir tahap pendewasaan. Terutama pada hari ke-18, dimana jumlah embrio dewasa pada medium MS mencapai 1,72 kali lebih tinggi. Hal tersebut menunjukkan bahwa untuk memperoleh jumlah embrio torpedo dewasa, medium MS lebih efektif dibandingkan dengan medium N<sub>6</sub>. Kedua medium tersebut mengandung nitrat dan ammonium, namun konsentrasi ammonium lebih tinggi dalam medium MS. Jadi untuk memperoleh jumlah embrio torpedo pada massa pro-



embriogenik meristem jahe, selain nitrat juga dibutuhkan senyawa ammonium yang cukup tinggi. Kandungan ammonium yang cukup tinggi dapat mendukung proses diferensiasi embrio somatik untuk tumbuh dan berkembang menjadi plantlet normal, sebab konsentrasi ammonium dalam media kultur dapat mempengaruhi asam amino dan sintesis protein serta diferensiasi embrio somatik (George, 1993). Hasil penelitian yang sama juga ditunjukkan oleh Krikorian (1995) dan Adkins *et al.* (2002) dimana nitrogen reduksi (ammonium) dibutuhkan mulai dari pra-globular hingga terbentuk embrio somatik. Bhojwani dan Razdan (1996) juga berpendapat bahwa perkembangan embrio somatik terjadi apabila medium mengandung nitrogen reduksi. Menurut Ramage dan Williams (2002) beberapa penelitian dengan berbagai tanaman menunjukkan bahwa ammonium sama baiknya seperti nitrat. Nitrat dianggap penting sebagai bentuk nitrogen untuk kultur jaringan tanaman, dan sebagai sumber nitrogen satu-satunya untuk morfogenesis. Jadi kebutuhan ammonium maupun nitrat dalam pertumbuhan dan morfogenesis embrio somatik sangat spesifik, bergantung kepada sumber eksplan, dan zat pengatur tumbuh yang digunakan.

Penggunaan sukrosa (6%) pada medium pendewasaan, juga berperan positif terhadap diferensiasi embrio somatik jahe. Menurut Percy *et al.* (2000) umumnya produksi embrio meningkat pada medium yang tekanan osmotiknya tinggi. Tekanan osmotik tersebut dapat ditentukan oleh sukrosa, yang juga berfungsi sebagai sumber karbon (Van Creij *et al.*, 1999). Konsentrasi senyawa osmotik dari medium menjadi faktor penting untuk pertumbuhan embrio (Raghavan, 2003; Vasil *et al.*, 1982). Pendewasaan sel embriogenik normal dapat diperoleh dengan cara mengkulturkan massa pro-embriogenik pada konsentrasi sukrosa 3 – 6%. Sukrosa yang dihidrolisis oleh enzim invertase menjadi glukosa dan fruktosa, akan menjadi substrat yang diperlukan untuk pertumbuhan (Merkle *et al.*, 1990). Menurut Wiweger (2003) gula juga dapat berfungsi sebagai molekul sinyal yang mengendalikan ekspresi gen dan proses perkembangan tumbuhan. Jenis dan konsentrasi gula tersebut dapat meningkatkan produksi embrio somatik dan mendukung pembentukan embrio somatik menjadi

plantlet (Sakhanokho *et al.*, 2004), serta dapat mempengaruhi morfogenesis embrio somatik (Bogunia dan Przywara, 2000). Penelitian ini menunjukkan bahwa 6% sukrosa yang ditambahkan ke dalam medium MS dapat mendewasakan embrio somatik dengan jumlah yang cukup tinggi, 18 hari setelah kultur.

## KESIMPULAN

Media dasar MS dan N<sub>6</sub> memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap proliferasi kalus embriogenik pada kultur meristem jahe. Medium MS yang ditambahkan 3% manitol, mampu meningkatkan jumlah embrio somatik bentuk globular sebanyak 82,0 embrio/1 g kalus embriogenik, sementara pada medium N<sub>6</sub> diperoleh sebanyak 70,0 embrio/1 g kalus embriogenik, setelah 4 minggu kultur.

Media tumbuh MS dan N<sub>6</sub> memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap pendewasaan embrio somatik pada kultur meristem jahe. Medium MS yang ditambahkan 6% sukrosa mampu menghasilkan embrio somatik dewasa sebanyak 57,2 embrio, setelah 18 hari kultur, sementara pada medium N<sub>6</sub> sebanyak 44,2 embrio, setelah 10 hari kultur.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adkins SW, ALAdkins, CM Ramage and RR Williams.** 2002. *In vitro* ecology: Modification of headspace and medium conditions can optimize tissue and plant development. In: *The Importance of Plant Tissue Culture and Biotechnology in Plant Sciences*, 55-77. A Taji and R Williams (Eds). University of New England, Australia.
- Anbzhagan VR and A Ganapathi.** 1999. Somatic embryogenesis in cell suspension cultures of pigeonpea (*Cajanus cajan*). *Plant Cell, Tissue and Organ Cult.* **56**, 179-184.
- Bach A and B Pawlowska.** 2003. Somatic embryogenesis in *Gentiana pneumonanthe* L. *Acta Bio. Crac. Series Bot.* **45 (2)**, 79-86.
- Bhojwani SS and MK Razdan.** 1996. *Plant Tissue Culture: Theory and Practice*. Elsevier Amsterdam, Oxford, New York, Tokyo.
- Biro Pusat Statistik.** 2003. *Statistik Perdagangan Luar Negeri Indonesia*. Biro Pusat Statistik, Jakarta.
- Biro Pusat Statistik.** 2004. *Statistik Tanaman Obat-obatan dan Hias*. Badan Pusat Statistik, Jakarta.

- Bogunia H and L Przywara. 2000.** Effect of carbohydrates on callus induction and regeneration ability in *Brassica napus* L. *Acta Bio. Crac. Series Bot.* **42** (1), 79-86.
- Bronsema FBF, WJE van Oostveen and AAM van Lammeren. 1997.** Comparative analysis of callus formation and regeneration on cultured immature maize embryos of the inbred lines A188 and A632. *Plant Cell, Tissue and Organ Cult.* **50**, 57-65.
- Chu CC, CC Wang, CS Sun, C Hsu, KC Yin, YC Chu and Ing Bi, 1975.** Establishment of an efficient medium for anther culture of rice through comparative experiments of the nitrogen sources. *Sci. Sin.* **18**, 650-668.
- Davies PJ. 1995.** The plant hormones: Their nature, occurrence and functions. *In: Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology.* PJ Davies (Ed) Kluwer Academic, Dordrecht, Boston, London.
- Dedicova B, A Hricova, J Samaj, B Obert, M Bobak and A Pretöva. 2000.** Shoots and embryo-like structures regenerated from cultured flax (*Linum usitatissimum* L.) hypocotyl segments. *J. Plant Physiol.* **157**, 327-334.
- Ditjenbun. 2004.** *Statistik Perkebunan Indonesia.* Direktorat Jenderal Bina Produksi Perkebunan, Departemen Pertanian, Jakarta.
- El Hadrami I, MP Carron and J Däuzac. 1991.** Influence of exogenous hormones on somatic embryogenesis in *Hevea brasiliensis*. *Ann. Bot.* **67**, 511-515.
- Evans DE and Sharp WR. 1986.** Somaclonal and gametoclonal variation. *Dalam: Hand Book of Plant Cell Culture, Vol. 4, Technique and Application*, 97-132. Evans *et al.* (Eds) MacMillan Pub. Co., New York.
- Fransz, PF and JHN Schel. 1991.** Cytodifferentiation during the development of friable embryogenic callus in maize (*Zea mays*). *Can. J. Bot.* **69**, 26-33.
- Furlong NE, EA Lovelace and KL Lovelace. 2000.** *Research Methods and Statistics an Integrated Approach.* Harcourt College, Tokyo.
- George EF. 1993.** *Plant Propagation by Tissue Culture.* 2<sup>nd</sup> ed. Exegetics Ltd, England.
- George EF and PD Sherrington. 1984.** *Plant Propagation by Tissue Culture.* Exegetics Ltd, England.
- Guerra MP and W Handro. 1998.** Somatic embryogenesis and plant regeneration in different organs of *Euterpe edulis* Mart. (Palmae) Control and structural features. *J. Plant Res.* **111**, 65-71.
- Guo Y and Z Zhang. 2005.** Establishment and plant regeneration of somatic embryogenic cell suspension cultures of the *Zingiber officinale* Rosc. *Sci. Hortic.* **107**, 90-96.
- Heinze B and J Schmidt. 1995.** Monitoring genetic fidelity vs somaclonal variation in Norway Spruce (*Picea abies*) somatic embryogenesis by RAPD analysis. *Euphytica* **85**, 341-345.
- Jimenez VM. 2001.** Regulation of *in vitro* somatic embryogenesis with emphasis on the role of endogenous hormones. *R. Bras. Fisiol. Veg.* **13** (2), 196-223.
- Krikorian AD. 1995.** Hormones in tissue culture and micropropagation. *In: Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology.* PJ Davies (Ed.). Kluwer Academic, Dordrecht, Boston, London.
- Mariska I. 1997.** Embriogenesis somatik tanaman kehutanan. Seminar Intern Balitbio, 27 Juni 1997.
- Mariska I dan SF Syahid. 1992.** Perbanyakkan vegetatif melalui kultur jaringan pada tanaman jahe. *Buletin Littri* **4**, 1-5.
- Merkle SA, WA Parrott and EG Williams. 1990.** Application of somatic embryogenesis and embryo cloning. *In: Plant Tissue Culture: Applications and Limitations.* SS Bhojwani (Ed). Elsevier, Amsterdam, Oxford, New York, Tokyo.
- Narayanaswamy S. 1990.** *Plant Cell and Tissue Culture.* Tata McGraw-Hill, New Delhi.
- Oropeza M, AK Marcano and E de Garcia. 2001.** Proteins related with embryogenic potential in callus and cell suspensions of sugarcane (*Saccharum* sp.). *In vitro Cell Dev. Biol. Plant.* **37**, 211-216.
- Padmanabhan D, DJ Cantliffe and RC Harrell. 1998.** A comparison of shoot-forming and non-shoot-forming somatic embryos of sweet potato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] using computer vision and histological analyses. *Plant Cell Rep.* **17**, 685-692.
- Percy RE, K Klimaszewska and DR Cyr. 2000.** Evaluation of somatic embryogenesis for clonal propagation of western white pine. *Can. J. For. Res.* **30**, 1867-1876.

- Raghavan V. 2003.** One hundred years of zygotic embryo culture investigations. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* **89**, 437-442.
- Rahman MM, MN Amin, T Ahamed, MR Ali and A Habib. 2004.** Efficient plant regeneration through somatic embryogenesis from leaf base-derived callus of *Kaempferia galanga* L. *Asian J. of Plant Sci.* **3 (6)**, 675-678.
- Ramage CM and RR Williams. 2002.** Mineral nutrition and plant morphogenesis. In: *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* **38**, 116-124.
- Sakhanokho HF, Zipf A, K Rajasekaran, S Saha, GC Sharma and PW Chee. 2004.** Somatic embryo initiation and germination in diploid cotton (*Gossypium arboreum* L.). *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* **40**, 177-181.
- Sass JE. 1951.** *Botanical Microtechnique*. Iowa State University Press, Ames.
- Sitinjak RR, O Rostiana, T Supriatun dan Karyono. 2006.** Pengaruh 2,4-D dan BA terhadap induksi kalus embriogenik pada kultur meristem jahe (*Zingiber officinale* Rosc.). *Berita Biol.* **8 (2)**, 115-120.
- Supriadi, JG Elphinstone, SJ Eden-Green and SY Hartati. 1995.** Physiological, serological and pathological variation amongst isolates of *Pseudomonas solanacearum* from ginger and other hosts in Indonesia. *J. Littri.* **1(2)**, 88-98.
- Talwar M and A Rashid. 1989.** Somatic embryo formation from unemerged inflorescences and immature embryos of a graminaceous crop *Echinochloa*. *Ann. Bot.* **64**, 195-199.
- Tan SK, R Phippen, R Yusof, H Ibrahim, N Rahman and N Khalid. 2005.** Simple one-medium formulation regeneration of fingerroot [*Boesenbergia rotunda* (L) Mansf. Kulturpfl.] via somatic embryogenesis. *In Vitro Cell. Dev. Biol-Plant* **41**, 757-761.
- Torres AC, N Mfée Ze and DJ Cantliffe. 2001.** Abscisic acid and osmotic induction of synchronous somatic embryo development of sweet potato. *In vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* **37**, 262-267.
- Van Creij MGM, DMF Kerckhoffs, SM de Bruijn, D Vreugdenhil and JM Van Tuyl. 1999.** The effect of medium composition on ovary-slice culture and ovule culture in intraspecific *Tulipa gesneriana* L. crosses. Available at <http://www.liliumbreeding.ne/crey-med.htm> [12/06/2004].
- Vasil IK, V Vasil, C Lu, P Ozias-Akins, Z Haydu and D Wang. 1982.** Somatic embryogenesis in cereals and grasses In: *Variability in Plants Regenerated from Tissue Culture*. ED Earle and Y Demarly (Eds.) Praeger Scientific, New York, USA.
- Wiweger M. 2003.** Signal molecules in embryogenesis of norway spruce. *Doctoral Thesis*. Swedia University Agricultural Sciences, Uppsala.
- Ziv M. 1999.** Developmental and structural patterns of *in vitro* plants. In: *Morphogenesis in Plant Tissue Culture*. W Soh and SS Bhojwani (Eds.). Kluwer Academic, Dordrecht, Boston, London.