

**Proliferasi Tunas Adventif *Tagetes (Tagetes erecta L.)* Kultivar African Crackerjack dengan BAP, GA3, dan IAA Secara *In Vitro***

***In Vitro* proliferation of adventitious shoots of *Tagetes (Tagetes erecta L.)* var. African Crackerjack by combination BAP, GA3, and IAA**

**Muhammad Baidowi dan Ni Made Armini Wiendi\***

Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor (Bogor Agricultural University), Jl. Meranti, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680, Indonesia  
Telp.&Faks. 62-251-8629353 e-mail agronipb@indo.net.id  
\*Penulis untuk korespondensi : arminiwiendi@yahoo.co.id

Disetujui 16 Januari 2017/ *Published Online* 24 Januari 2017

**ABSTRACT**

*The main objective of this research was to observe the adventitious shoot proliferation of different explants (epycotil, cotyledon, hypocotyl) Tagetes (Tagetes erecta L.) with combination of PGR (BAP, GA3, and IAA). The first experiment was focused on seed sterilization. Epycotil was the only one explant that successfully differentiated into shoots, callus from hypocotyl and cotyledon were not differentiated into shoots due to phenolic. Combination BAP and IAA induced 70.7% callus from epicotyl, 49.3% callus from cotyledon, and 53% callus from hypocotyl. Combination BAP and GA3 induced 60% callus from epicotyl, 48% callus from cotyledon, and 46% callus from hypocotyl. The result of experiment number two showed that the best media for adventitious shoot proliferation from epycotil are MS with 0.87 mg L<sup>-1</sup> IAA + 0.5 mg L<sup>-1</sup> BAP and MS with 0.43 mg L<sup>-1</sup> IAA + 0.5 mg L<sup>-1</sup> BAP. On the experiment number three showed that the best media for adventitious shoot proliferation from epycotil are MS with 1.73 mg L<sup>-1</sup> GA3 + 1.5 mg L<sup>-1</sup> BAP. Combination among GA3 and BAP were not significantly influence to the all variable. The result of experiment number two showed IAA influenced to callus-derived (at one week after treated), the number of adventitious shoots (at 3 weeks after treated), and leaves induced (at 4 and 5 weeks after treated). BAP significantly influenced to callus induced (at one week after treated), callus developed adventitious shoots (at 3 week after treated), and the number of adventitious shoot (at 3 week after treated). Experiment three showed that rooting was influenced by GA3 at 4 week and 5 week after treated, and BAP influenced the differentiation of callus from epicotyl to adventitious shoots at 3 week after treated.*

*Keyword : BAP, GA3, IAA, Proliferasi, Tagetes erecta L.*

**ABSTRAK**

*Tujuan penelitian ini mempelajari proliferasi tunas adventif eksplan hipokotil, epikotil, dan kotiledon Marigold (Tagetes erecta L.) secara in vitro dengan kombinasi BAP, GA3, dan IAA. Percobaan pertama adalah mengenai sterilisasi benih. Eksplan percobaan dua dan tiga adalah epikotil, hipokotil, dan kotiledon dari kecambah aseptik. Eksplan epikotil berhasil terproliferasi sedangkan hipokotil dan kotiledon tidak terproliferasi karena oksidasi fenol. Interaksi BAP dan IAA berpengaruh nyata pada induksi kalus epikotil pada semua minggu pengamatan, sedangkan interaksi BAP dan GA3 tidak berpengaruh nyata pada semua parameter. Komposisi media MS ditambah IAA dan BAP berhasil menginduksi kalus 70.7% dari eksplan epikotoil, 49.3% dari eksplan kotiledon, 53% dari hipokotil. Komposisi media MS ditambah GA3 dan BAP berhasil menginduksi kalus 60% dari eksplan epikotoil, 48% dari eksplan kotiledon, 46% dari hipokotil. Pada percobaan dua, media MS dengan 0.87 mg L<sup>-1</sup> IAA + 0.5 mg L<sup>-1</sup> BAP dan media MS dengan 0.43 mg L<sup>-1</sup> IAA + 0.5 mg L<sup>-1</sup> BAP terbaik dalam menginduksi tunas adventif eksplan epikotil. Pada percobaan tiga, proliferasi tunas adventif tertinggi pada media MS dengan 1.73 mg L<sup>-1</sup> GA3 + 1.5 mg L<sup>-1</sup> BAP. IAA berpengaruh nyata pada eksplan bertunas pada satu 1 MSP, tunas per eksplan pada 3 MSP, dan daun pertunas pada 4 MSP dan 5 MSP, sedangkan BAP berpengaruh nyata pada induksi kalus pada 1 MSP, eksplan bertunas pada 3 MSP, dan tunas per eksplan pada 3 MSP. Pada percobaan tiga, GA3 berpengaruh nyata pada pembentukan akar pada 4 MSP dan 5 MSP, sedangkan BAP berpengaruh nyata pada proliferasi tunas per eksplan pada 3 MSP.*

*Kata kunci : BAP, GA3, IAA, Proliferasi, Tagetes erecta L.*

## PENDAHULUAN

*Tagetes* sp. memiliki banyak kegunaan antara lain sebagai antinematoda, antimikroba, antiinflamatori, antibakteri, fungisida, herbisida, malarisida, kosmetik, dan pewarna alami (Vasudevan *et al.*, 1997; Tomova *et al.*, 2005; Hook *et al.*, 2010; Moetamadi *et al.*, 2015; Karwani dan Sisodia, 2015). Studi etnobotani yang dilakukan di berbagai negara (Meksiko, India, Pakistan, dan Indonesia) melaporkan bahwa *Tagetes* sp. merupakan salah satu tanaman yang digunakan sebagai obat tradisional dan upacara keagamaan (Hernandes *et al.*, 2003; Susiarti, 2006; Qureshi *et al.*, 2007; Rajakumar dan Shivanna, 2009; Surata *et al.*, 2015). *Tagetes* sp. yang mengandung minyak esensial yang dapat dimanfaatkan secara luas tersebut mengindikasikan kebutuhan akan bibit tanaman ini cukup besar. Menurut Cornelius dan Wycliffe dalam Preedy (2016) melaporkan pertumbuhan produksi minyak *Tagetes* sp. di dunia mengalami kemajuan pesat dari 1.5 ton/tahun pada tahun 1984 menjadi 15 ton/tahun pada tahun 2015 dengan harga berkisar US\$50- US\$155 per kilogram. Negara produsen terbesar minyak *Tagetes* sp. adalah Mesir, Zimbabwe, Nepal, India dan Australia. Indonesia belum mampu memproduksi minyak *Tagetes* sp. dan mengekspor bahan mentah (bibit, benih, maupun bunga). Petani di Indonesia memperbanyak *Tagetes* sp. secara *in vivo* dan konvensional, baik dengan biji atau stek yang dinilai kurang efisien secara teknis, waktu, ekonomi, dan tidak mampu menghasilkan tanaman dengan kapasitas besar dan seragam dalam waktu yang cepat. Perbanyak secara *in vitro* dengan teknik kultur jaringan perlu dilakukan. Perbanyak *Tagetes* sp. secara kultur jaringan sudah banyak dikembangkan di luar negeri namun di Indonesia belum dilakukan. Kultur jaringan dengan tujuan proliferasi merupakan salah satu teknik dalam perbanyak tanaman secara klonal untuk perbanyak masal. Keuntungan pengadaan bibit melalui kultur jaringan antara lain dapat diperoleh bahan tanaman yang bermutu dalam jumlah banyak dan seragam, selain itu diperoleh propagula (*mother stock*) sehingga dapat digunakan sebagai bahan untuk perbanyak selanjutnya (Wattimena *et al.*, 2011).

Keberhasilan proliferasi seringkali bergantung pada jenis tanaman, media, dan sumber eksplan. Media seringkali disesuaikan dengan tujuan pengkulturan. Kombinasi ZPT seperti auksin, giberelin, dan sitokinin sering digunakan dalam penelitian kultur jaringan untuk tujuan proliferasi (Wiendi *et al.*, 1991).

Berdasarkan beberapa penelitian melaporkan bahwa beberapa spesies *Tagetes* sp. diperbanyak secara *in vitro* pada beberapa komposisi media dan sumber eksplan yang berbeda. Belarmino *et al.* (1992) melaporkan bahwa komposisi MS dengan penambahan kombinasi NAA (0.2 mg L<sup>-1</sup>, 0.5 mg L<sup>-1</sup>, 1.0 mg L<sup>-1</sup>, 2.0 mg L<sup>-1</sup>, 5.0 mg L<sup>-1</sup>) dan BAP (0.2 mg L<sup>-1</sup>, 0.5 mg L<sup>-1</sup>, 1.0 mg L<sup>-1</sup>, 2.0 mg L<sup>-1</sup>, 5.0 mg L<sup>-1</sup>) dapat menginduksi kalus eksplan daun dan hipokotil *T. erecta*. Hasil penelitian Osman *et al.* (2012) memperkuat dugaan bahwa media berpengaruh terhadap proliferasi *Tagetes* sp. Osman *et al.* (2012) melaporkan perlakuan kondisi terang dan gelap dengan media MS dengan penambahan NAA (0.5 mg L<sup>-1</sup>, 7.0 mg L<sup>-1</sup>, 10.0 mg L<sup>-1</sup>) dan BAP (5 mg L<sup>-1</sup>, 10 mg L<sup>-1</sup>, 15 mg L<sup>-1</sup>) dapat memacu induksi kalus *T. erecta* dan *T. patula* dari eksplan daun, akar, dan batang. Selain ditumbuhkan pada komposisi media MS dengan penambahan auksin dan sitokinin, proliferasi tunas adventif *T. erecta* dapat dipacu dengan komposisi media MS dengan penambahan giberelin dan sitokinin. Misra dan Datta (2001) melaporkan bahwa media MS dengan penambahan 3.46 mg L<sup>-1</sup> GA3 + 0.22 mg L<sup>-1</sup> BA berhasil memacu organogenesis daun *T. erecta*. Selain dipengaruhi oleh media, proliferasi *Tagetes* sp. dipengaruhi oleh jenis eksplan. Eksplan merupakan bagian dari tanaman baik dari tingkat sel maupun jaringan yang diisolasi untuk dijadikan sebagai bahan tanam secara *in vitro*. Jaringan meristematik yang berasal dari sel somatik umum digunakan dalam upaya multiplikasi eksplan tanpa merubah susunan genetik. Jaringan muda yang umum dipakai dari organ kecambah yaitu kotiledon, hipokotil, dan epikotil (Campbell *et al.*, 2008). Mohamed *et al.* (1999) melaporkan mikropropagasi hipokotil dan kotiledon *T. minuta* menghasilkan kalus pada komposisi media MS dengan penambahan kombinasi IAA (1 mg L<sup>-1</sup>, 3 mg L<sup>-1</sup>, 5 mg L<sup>-1</sup>) dan NAA (1 mg L<sup>-1</sup>, 3 mg L<sup>-1</sup>, 5 mg L<sup>-1</sup>) dengan BA (1 mg L<sup>-1</sup>, 5 mg L<sup>-1</sup>, 10 mg L<sup>-1</sup>, 15 mg L<sup>-1</sup>). Sementara Miranda-ham *et al.* (2006) melaporkan eksplan meristem apeks *T. erecta* tumbuh menjadi kalus dan terdeferensiasi menjadi tunas pada komposisi media MS dengan penambahan kombinasi IAA (1.75 mg L<sup>-1</sup>, 5.25 mg L<sup>-1</sup>) dengan BA (6.75 mg L<sup>-1</sup>, 11.25 mg L<sup>-1</sup>, 11.75 mg L<sup>-1</sup>). Penelitian lebih lanjut untuk mempelajari pengaruh auksin, sitokinin, dan giberelin pada sumber eksplan *T. erecta* yang berbeda perlu dilakukan sebagai rujukan untuk memproduksi bibit klonal *T. erecta* yang bermutu secara efektif.

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari kemampuan proliferasi eksplan hipokotil, pucuk (epikotil), dan kotiledon *Tagetes*

(*Tagetes erecta* L.) kultivar African Crackerjack melalui induksi tunas adventif secara *in vitro* dengan penambahan zat pengatur tumbuh BAP, GA3, dan IAA.

### METODE PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari kemampuan proliferasi eksplan hipokotil, pucuk (epikotil), dan kotiledon *Tagetes* (*Tagetes erecta* L.) kultivar African Crackerjack melalui induksi tunas adventif secara *in vitro* dengan penambahan zat pengatur tumbuh BAP, GA3, dan IAA. Bahan sterilan yang digunakan pada semua percobaan adalah Clorox dengan bahan aktif Natrium Hipoklorat ( $\text{NaClO}_3$ ) yang dilarutkan dalam air steril. Bahan tanaman pada percobaan satu (sterilisasi) adalah benih *Tagetes* (*Tagetes erecta* L.) kultivar African Crackerjack, sedangkan bahan tanaman yang dipakai pada percobaan dua dan tiga (percobaan proliferasi) adalah eksplan dari kecambah aseptik *Tagetes* yaitu epikotil, kotiledon, dan hipokotil yang

berumur 7 hari setelah ditumbuhkan pada media komposisi MS tanpa zat pengatur tumbuh. Bahan-bahan penunjang lain yang digunakan pada penelitian ini diantaranya adalah aquades, spirtus, alkohol 70%, tissue, plastik wrap, botol kultur. Sementara alat-alat percobaan yang digunakan pada penelitian ini diantaranya alat-alat kultur, *autoclave*, dan *Laminar Air Flow Cabinet*.

#### *Pengembangan protokol sterilisasi benih Tagetes (Tagetes erecta L.) kultivar African Crackerjack*

Percobaan ini didesain menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 1 faktor. Faktor perlakuan adalah metode sterilisasi benih. Terdapat 4 perlakuan dengan masing-masing perlakuan terdiri dari 4 ulangan. Setiap ulangan terdiri dari 5 benih sebagai satuan amatan sehingga total satuan amatannya adalah 80 satuan amatan. Perlakuan sterilisasi dilakukan dua tahap perendaman untuk setiap perlakuan. Perlakuan-perlakuan pada percobaan sterilisasi benih disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Perlakuan percobaan sterilisasi benih *Tagetes* (*Tagetes erecta* L.) kultivar African Crackerjack

Perlakuan	Perendaman ke-satu	Perendaman ke-dua
P0:	100 ml Air Steril (0% clorox) selama 15 menit	-
P1:	70 ml Air Steril + 30 ml clorox (15 menit)	90 ml Air Steril + 10 ml clorox (5 menit)
P2:	50 ml Air Steril + 50 ml clorox (15 menit)	90 ml Air Steril + 10 ml clorox (5 menit)
P3:	25 ml Air Steril + 75 ml clorox (15 menit)	90 ml Air Steril + 10 ml clorox (5 menit)

Analisis data dilakukan dengan uji F taraf 5% dengan menggunakan program SAS (*Statistical Analysis Sistem*) 9.1.3. Jika berbeda nyata diuji lanjut menggunakan DMRT (*Duncan Multiple Range Test*).

#### *Proliferasi tunas adventif Tagetes (Tagetes erecta L.) kultivar African Crackerjack dengan penambahan BAP dengan IAA*

Percobaan kedua untuk mempelajari pengaruh komposisi media MS dengan penambahan kombinasi BAP dengan IAA terhadap proliferasi *Tagetes* (*Tagetes erecta* L.) kultivar African Crackerjack. Eksplan yang dipakai adalah bagian kecambah aseptik dari

benih *Tagetes* yang terdiri dari epikotil, hipokotil, dan kotiledon. Percobaan kedua menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktorial dengan dua faktor dengan waktu penanaman sebagai kelompok. Pada percobaan kedua, faktor pertama adalah zat pengatur tumbuh BAP dengan 3 taraf :  $0.5 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $1.0 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $1.5 \text{ mg L}^{-1}$ . Faktor kedua adalah zat pengatur tumbuh IAA dengan tiga taraf yaitu  $0.43 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $0.87 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $1.30 \text{ mg/L}$ . Terdapat 9 perlakuan dengan 3 kali ulangan. Setiap ulangan terdiri dari 3 epikotil, 4 kotiledon, dan 4 hipokotil sebagai satuan amatan. Sehingga terdapat 297 satuan amatan. Perlakuan-perlakuan pada percobaan kedua disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Perlakuan percobaan proliferasi tunas adventif *Tagetes (Tagetes erecta L.)* kultivar African Crackerjack dengan penambahan BAP dan IAA

BAP (mg L <sup>-1</sup> )	IAA (mg L <sup>-1</sup> )		
	A1 : 0.43 mg L <sup>-1</sup>	A2 : 0.87 mg L <sup>-1</sup>	A3 : 1.30 mg L <sup>-1</sup>
B1 : 0.5 mg L <sup>-1</sup>	A1B1	A2B1	A3B1
B2 : 1.0 mg L <sup>-1</sup>	A1B2	A2B2	A3B2
B3 : 1.5 mg L <sup>-1</sup>	A1B3	A2B3	A3B3

Analisis data dilakukan dengan uji F taraf 5% dengan menggunakan program SAS (*Statistical Analysis Sistem*) 9.1.3. Jika berbeda nyata diuji lanjut menggunakan DMRT (*Duncan Multiple Range Test*).

*Proliferasi tunas adventif Tagetes (Tagetes erecta L.) kultivar African Crackerjack dengan penambahan BAP dengan GA3*

Percobaan ketiga untuk mempelajari pengaruh komposisi media MS dengan penambahan kombinasi BAP dengan GA3 terhadap laju proliferasi *Tagetes (Tagetes erecta L.)* kultivar African Crackerjack. Eksplan yang

dipakai adalah bagian kecambah aseptik dari benih *Tagetes* yang terdiri dari epikotil, hipokotil, dan kotiledon. Percobaan ketiga disusun menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktorial dengan dua faktor. Waktu penanaman sebagai kelompok. Faktor pertama adalah zat pengatur tumbuh BAP dengan 3 taraf : 0.5 mg L<sup>-1</sup>, 1 mg L<sup>-1</sup>, 1.5 mg L<sup>-1</sup>. Faktor kedua adalah zat pengatur tumbuh GA3 dengan tiga taraf yaitu 0.86 mg L<sup>-1</sup>, 1.73 mg L<sup>-1</sup>, 2.60 mg L<sup>-1</sup>. Terdapat 9 perlakuan dengan 3 kali ulangan. Setiap ulangan terdiri 3 epikotil, 4 kotiledon, dan 4 hipokotil sebagai satuan amatan. Sehingga terdapat 279 satuan amatan. Perlakuan pada percobaan ketiga disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Perlakuan percobaan proliferasi tunas Adventif *Tagetes (Tagetes erecta L.)* kultivar African Crackerjack dengan penambahan BAP dan GA3

BAP (mg L <sup>-1</sup> )	GA3 (mg L <sup>-1</sup> )		
	C1 : 0.86 mg L <sup>-1</sup>	C2 : 1.73 mg L <sup>-1</sup>	C3 : 2.60 mg L <sup>-1</sup>
B1 : 0.5 mg L <sup>-1</sup>	C1B1	C2B1	C3B1
B2 : 1.0 mg L <sup>-1</sup>	C1B2	C2B2	C3B2
B3 : 1.7 mg L <sup>-1</sup>	C1B3	C2B3	C3B3

Analisis data dilakukan dengan uji F 5% dengan menggunakan program SAS (*Statistical Analysis Sistem*) 9.1.3. Jika berbeda nyata diuji lanjut menggunakan DMRT (*Duncan Multiple Range Test*).

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

*Pengembangan Protokol Sterilisasi Benih Tagetes (Tagetes erecta L.) kultivar African Crackerjack*

Perlakuan berpengaruh nyata terhadap persentase benih aseptik dan rata-rata jumlah benih yang berkecambah, namun tidak berpengaruh nyata terhadap waktu kecambah.

Tabel 4 menjelaskan bahwa peningkatan konsentrasi Natrium Hipoklorat (NaClO<sub>3</sub>) dari 30% sampai 75% (P1, P2, P3) menekan angka kontaminasi dan meningkatkan daya kecambah, berbeda bila dibandingkan dengan kontrol (P0) yang tidak diberi perlakuan perendaman dengan desinfektan. Pada perlakuan ke-3 (P3) yaitu perlakuan dua kali perendaman yang terdiri dari perendaman pertama dengan 75% clorox (15 menit) dilanjutkan perendaman kedua dengan 10% clorox (10 menit) menunjukkan jumlah benih berkecambah, waktu berkecambah, dan persentase benih aseptik terbaik dibandingkan dengan perlakuan yang lain, sehingga perlakuan ini dinilai paling efektif untuk sterilisasi benih *Tagetes*.

Tabel 4. Data parameter percobaan sterilisasi benih *Tagetes (Tagetes erecta L.)* kultivar African Crackerjack sampai 7 HST

Perlakuan	Parameter		
	Waktu Berkecambah (HST)	Persentase Kontaminasi (%)	Jumlah Kecambah
P0	3.5	70b	2.5c
P1	3.0	2.5a	4.25b
P2	3.0	0.0a	5.0a
P3	3.0	0.0a	5.25a
Uji F	tn	**	**

Bahan desinfektan yang diuji adalah clorox yang memiliki kandungan bahan aktif Natrium Hipoklorat ( $\text{NaClO}_3$ ) 5%. Nakagawara *et al.* (1998) melaporkan bahwa  $\text{NaClO}$  efektif membunuh berbagai macam tipe bakteri. Senyawa  $\text{NaClO}$  dilarutkan dalam air, garam hipokloritnya membentuk senyawa  $\text{HClO}$  yang dapat menyebabkan kerusakan DNA sehingga menyebabkan kematian sel bakteri (Dukan *et al.*, 1999). Kontaminan bakteri pada penelitian dapat bersifat *epiphytes* atau *endophytes* (Sigeo, 1993). Bakteri bersifat *epiphytes* merupakan bakteri yang menempel pada jaringan luar sel eksplan (Odutayo *et al.*, 2007). Sementara bakteri *endophytes* merupakan bakteri yang tumbuh pada bagian ruang antar sel tanaman (Gunson dan Spencer-Phillips, 1994).

**Perkecambahan.** Setelah mendapatkan metode sterilisasi terbaik pada percobaan sterilisasi, benih disterilisasi dengan metode sterilisasi yang didapatkan pada percobaan sterilisasi, kemudian dikecambahkan pada media Murashige dan Skoog (MS) tanpa penambahan zat pengatur tumbuh dan dalam kondisi gelap sampai muncul kotiledon. Benih *Tagetes* sp. merupakan jenis benih yang memiliki struktur sisir pada pangkal biji. Hal ini menyebabkan tingginya faktor kontaminasi pada saat sterilisasi. Kontaminasi yang terjadi pada saat perkecambahan sebanyak 15% (Tabel 5). Kontaminan yang ditemukan pada saat perkecambahan adalah bakteri dan cendawan.

Letak embrionya sendiri berada di ujung berlawanan dari struktur sisir. Cahaya sangat

mempengaruhi perkecambahan benih *Tagetes erecta* kul African Crackerjack. Munculnya kotiledon menandakan benih telah berkecambah secara sempurna. Kotiledon merombak cadangan makanan yang terdapat pada endospermae saat proses-proses awal perkecambahan sehingga benih bisa menjalankan proses fisiologi perkecambahan. Kotiledon yang berwarna kuning menandakan respon terhadap kebutuhan cahaya sehingga benih dipindahkan ke tempat terang agar tidak terjadi etiolasi.

Benih *Tagetes (Tagetes erecta L.)* kultivar African Crackerjack bersifat *negatively photoblastic* yang terhambat perkecambahannya karena faktor cahaya. Apabila benih dikecambahkan pada kondisi terang maka akan terjadi *photodormancy*. Cahaya berpengaruh terhadap aktivitas *phytochrome*. *Phytochrome* merupakan pigmen pada benih yang menginduksi embrio untuk menghasilkan hormon giberelin. Giberelin menginduksi terbentuknya enzim amylase yang memecah pati menjadi gula sehingga meningkatkan tekanan osmosis benih. Tekanan osmosis mengakibatkan pecahnya kulit benih dan memacu proses imbibisi sehingga terjadi perkecambahan (Toyomasu *et al.*, 1998). Berdasarkan data yang diperoleh, benih dipindahkan pada 3 sampai 4 hari setelah perkecambahan (HSP). Sebanyak 79% benih berhasil berkecambah dengan normal, sedangkan sisanya terjadi kontaminasi, etiolasi, dan mati (Tabel 5). Rata-rata benih berkecambah pada 3 HST.

Tabel 5. Data fase perkecambahaban benih *Tagetes (Tagetes erecta L.)* kultivar African Crackerjack

Parameter	Hari Setelah Tanam (HST)						
	1	2	3	4	5	6	7
Kecambah Muncul (%)	2	8	52.5	71.5	78.5	79.5	79.5
Kecambah Sempurna (%)	0	2	5	50	73.5	75	79
Kecambah Etiolasi (%)	0	0.5	0.5	8	8	8	8
Kontaminasi (%)	0.5	6	6	11	15	15	15

*Percobaan proliferasi tunas adventif Tagetes (Tagetes erecta L.) kultivar African Crackerjack dengan penambahan BAP dan IAA*

Induksi kalus. Kontaminasi bersumber dari tempat kultur dan media. Rentang persentase eksplan aseptik pada media kombinasi IAA dan BAP adalah 33%-100%. Secara berurutan rata-rata persentase eksplan aseptik untuk hipokotil, epikotil, dan kotiledon adalah 87%, 82%, 62%. Data persentase eksplan epikotil, hipokotil, dan

kotiledon aseptik disajikan pada Lampiran 2. Pengaruh perlakuan dengan IAA dan BAP pada induksi kalus hanya berpengaruh nyata terhadap eksplan epikotil, sedangkan pada eksplan kotiledon dan hipokotil tidak berpengaruh nyata. Interaksi IAA dan BAP berpengaruh nyata terhadap induksi kalus eksplan epikotil sampai 5 MSP, faktor tunggal IAA tidak berpengaruh nyata, sementara BAP berpengaruh nyata terhadap induksi kalus epikotil pada 1 MSP.

Tabel 6. Persentase kalus eksplan epikotil berkalus pada media MS dengan penambahan IAA dan BAP sampai 5 MSP

Perlakuan (mg L <sup>-1</sup> )		Eksplan berkalus (%)			Rata-Rata (%)
IAA	BAP	Epikotil	Kotiledon	Hipokotil	
0.43		98	48	58	68
0.87	0.5	84	36	50	57
1.30		56	42	78	59
0.43		73	75	37	62
0.87	1.0	33	20	58	37
1.30		64	80	47	64
0.43		58	58	42	53
0.87	1.5	80	58	45	61
1.30		91	27	62	60
Rata-rata (%)		70.7	49.3	53.0	57.8

Tabel 6 menjelaskan bahwa perlakuan media dengan komposisi MS ditambah 0.43 mg L<sup>-1</sup> IAA + 0.5 mg L<sup>-1</sup> BAP menghasilkan rata-rata persentase kalus terbanyak pada semua jenis eksplan. Persentase eksplan epikotil, hipokotil, dan kotiledon membentuk kalus berada pada rentang 20%-98%. Hasil dari penelitian ini sama dengan penelitian Mohamed *et al.* (1999) bahwa 73%-100% eksplan kotiledon dan 60%-100% eksplan hipokotil *T. minuta* terproliferasi membentuk kalus pada perlakuan MS dengan kombinasi IAA (1 mg L<sup>-1</sup>, 3 mg L<sup>-1</sup>, 5 mg L<sup>-1</sup>) dan BA (1 mg L<sup>-1</sup>, 5 mg L<sup>-1</sup>, 10 mg L<sup>-1</sup>, 15 mg L<sup>-1</sup>). Perlakuan dengan media MS dengan 1 mg L<sup>-1</sup> IAA + 10 mg L<sup>-1</sup> BA terbaik untuk menginduksi

tunas *T. minuta*. Sementara Deka dan Arjuna (2014) melaporkan perlakuan MS dengan kombinasi 0.5 mg L<sup>-1</sup> IAA dengan 5.0 mg L<sup>-1</sup> Kinetin berhasil menginduksi kalus 100% dari eksplan daun *T. erecta*. Persentase kalus epikotil lebih tinggi dibanding hipokotil dan kotiledon diduga karena epikotil berada di daerah apeks yang merupakan tempat sintesis auksin sehingga memacu pembelahan sel yang lebih tinggi dibanding hipokotil dan kotiledon. BAP berpengaruh nyata terhadap induksi kalus diduga karena kemampuan sitokinin dalam memacu pembelahan sel, sehingga kalus akan mudah terbentuk dengan pemberian sitokinin (Arteca, 1995; Davies, 2004). Tekstur kalus yang

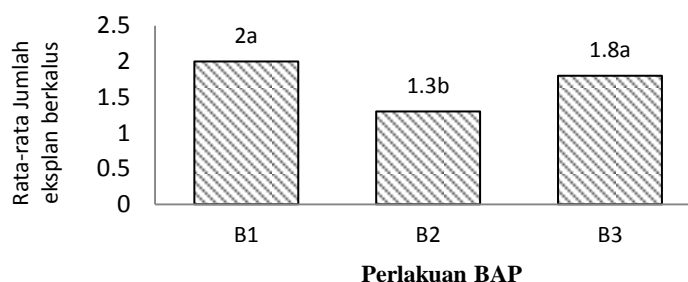
didapatkan pada semua eksplan dan semua media perlakuan bertekstur kompak. Nikam dan Khan (2012) melaporkan 100% kalus bertekstur kompak didapatkan pada kultur eksplan daun *T.*

*erecta* yang ditumbuhkan pada perlakuan media MS dengan penambahan kombinasi IAA (0.5 mg L<sup>-1</sup>, 2.0 mg L<sup>-1</sup>, 4.0 mg L<sup>-1</sup>) dan BAP (5.0 mg L<sup>-1</sup>).

Tabel 7. Pengaruh interaksi IAA dan BAP terhadap induksi kalus eksplan epikotil *Tagetes (Tagetes erecta L.)* kultivar African Crackerjack pada setiap minggu pengamatan

Perlakuan		Rata-rata jumlah epikotil berkalus				
IAA (mg L <sup>-1</sup> )	BAP (mg L <sup>-1</sup> )	Minggu setelah perlakuan (MSP)				
		1	2	3	4	5
0.43		2.6a	3.00a	3.00a	3.00a	3.00a
0.87	0.5	2.6a	2.66a	2.66a	2.33abc	2.33abc
1.30		0.6bc	1.66ab	1.33bc	1.33bc	1.33bc
0.43		1.3b	2.66a	2.33abc	2.33abc	2.33abc
0.87	1.0	0.0c	1.00b	1.00c	1.00c	1.00c
1.30		2.6a	1.66ab	2.00abc	1.66abc	1.66abc
0.43		1.3b	2.00ab	2.00abc	1.66abc	1.66abc
0.87	1.5	1.6ab	2.33ab	2.66ab	2.66ab	2.66ab
1.30		2.6a	3.00a	2.66ab	2.66ab	2.66ab
Uji F		**	*	*	*	*
KK (%) <sup>x</sup>		25.4	35.6	30.1	22.3	21.3

Keterangan: \*= berpengaruh nyata pada taraf uji 5%, \*\*= berpengaruh nyata pada taraf uji 1%, <sup>x</sup>= transformasi data  $(x+0.5)^{0.5}$



Keterangan:

B1: 0.5 mg/L BAP; B2: 1.0 mg/L BAP; B3: 1.5 mg/L BAP

Gambar 1. Pengaruh BAP terhadap jumlah eksplan berkalus dari epikotil *Tagetes (Tagetes erecta L.)* kultivar African Crackerjack pada satu minggu setelah perlakuan

Tabel 7 menjelaskan bahwa peningkatan konsentrasi BAP dan IAA tidak selalu meningkatkan persentase eksplan epikotil membentuk kalus. Meskipun perlakuan MS tanpa penambahan zat pengatur tumbuh tidak dapat menginduksi kalus *T. erecta* (Miranda-ham *et al.*, 2006), adanya kemungkinan tingginya hormon endogen pada bagian meristem apek pada bagian epikotil sehingga ketika diberi hormon eksogen tidak selalu berpengaruh positif terhadap pertumbuhan tunas (Evans *et al.*, 2003).

Gambar 1 menunjukkan BAP berpengaruh nyata terhadap induksi kalus epikotil pada 1 MSP. Hasil uji lanjut menjelaskan perlakuan MS ditambah 1.0 mg L<sup>-1</sup> BAP cenderung lebih kecil dalam meningkatkan induksi kalus eksplan epikotil dibandingkan dengan perlakuan MS

dengan 0.5 mg/L BAP dan perlakuan MS dengan 1.5 mg/L BAP.

**Proliferasi tunas adventif.** Kalus terdiferensiasi menjadi tunas didapatkan hanya pada eksplan epikotil, sedangkan untuk kalus kotiledon dan hipokotil tidak terjadi proliferasi membentuk tunas karena eksplan mati akibat senyawa fenolik. Proliferasi tunas adventif epikotil terjadi antara 1 MSP sampai 2 MSP. Interaksi IAA dan BAP dan faktor tunggal IAA dan BAP tidak berpengaruh nyata terhadap waktu proliferasi. Eksplan epikotil bertunas terbanyak didapatkan pada media MS dengan penambahan 0.43 mg L<sup>-1</sup> IAA + 0.5 mg L<sup>-1</sup> BAP, sedangkan jumlah tunas terbanyak didapatkan pada media MS dengan penambahan 0.87 mg L<sup>-1</sup> IAA + 0.5 mg L<sup>-1</sup> BAP.

Interaksi IAA dan BAP tidak berpengaruh nyata baik terhadap jumlah eksplan epikotil bertunas maupun jumlah tunas per eksplan. BAP berpengaruh nyata terhadap jumlah eksplan epikotil bertunas pada 3 MSP, sedangkan IAA berpengaruh nyata terhadap jumlah eksplan epikotil bertunas pada 1 MSP (Tabel 8). Sementara faktor tunggal IAA dan BAP berpengaruh nyata terhadap jumlah tunas per eksplan epikotil pada 3 MSP (Gambar 2).

Miranda-Ham *et al.* (2006) melaporkan proliferasi 70% tunas adventif tumbuh dari eksplan meristem apeks yang diberi perlakuan MS dengan penambahan 1.75 mg L<sup>-1</sup> IAA + 15.75 mg

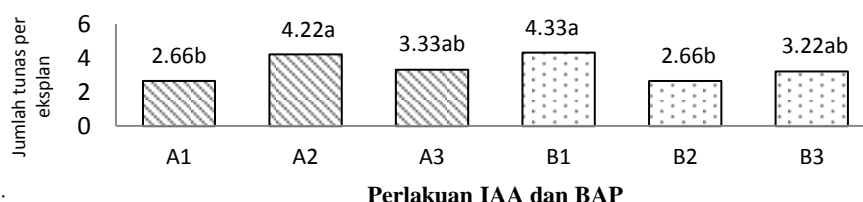
L<sup>-1</sup> BA. Sementara hasil penelitian Qi *et al.* (2011) melaporkan 70% tunas adventif berhasil didapatkan dari kultur anther beberapa genotipe *T. patula* pada media MS dengan 0.5 mg L<sup>-1</sup> NAA + 0.5 mg L<sup>-1</sup> BA.

Eksplan kotiledon dan hipokotil tidak terploriferasi karena terkena senyawa fenolik. Oksidasi fenol banyak ditemukan pada kultur *Tagetes* sp. Oksidasi fenol diduga karena eksplan menghasilkan senyawa polifenol seperti lignin, tanin, dan lainnya yang bisa bersifat antioksidan dan oksidatif yang sedang banyak dikembangkan di berbagai industri (Miranda-Ham *et al.*, 2014; Nikam dan Khan, 2014).

Tabel 8. Faktor tunggal IAA dan BAP terhadap jumlah eksplan epikotil bertunas pada *Tagetes (Tagetes erecta L.)* kultivar African Crackerjack

IAA (mg L <sup>-1</sup> )	Rata-rata jumlah eksplan epikotil bertunas				
	Minggu Setelah Perlakuan (MSP)				
	1	2	3	4	5
0.43	<b>0.33b</b>	1.77	2.11	2.44	2.22
0.87	<b>0.77ab</b>	2.44	2.66	2.77	2.66
1.30	<b>0.11a</b>	2.0	2.11	2.11	2.44
Uji F	*	tn	tn	tn	tn
BAP (mg L <sup>-1</sup> )	Minggu Setelah Perlakuan (MSP)				
	1	2	3	4	5
	0.5	0.44	2.44	<b>2.77a</b>	2.88
1.0	0.55	1.77	<b>1.89b</b>	2.33	2.22
1.5	0.22	2.0	<b>2.22ab</b>	2.11	2.33
Uji F	tn	tn	*	tn	tn
KK (%) <sup>x)</sup>	22.5	21.1	13.4	11.9	12.0

Keterangan: tn= tidak berpengaruh nyata, \*= berpengaruh nyata pada taraf uji 5%, <sup>x)</sup>= transformasi data (x+0,5)<sup>0,5</sup>



Keterangan:  
 A1 = 0.43 mg/L IAA ; A2 = 0.87 mg/L IAA ; A3= 1.30 mg/L IAA  
 B1 = 0.5 mg/L BAP ; B2 = 1.0 mg/L BAP ; B3 = 1.5 mg/L BAP

Gambar 2. Pengaruh faktor IAA dan BAP terhadap rata-rata jumlah tunas per eksplan epikotil *Tagetes (Tagetes erecta L.)* kultivar African Crackerjack pada 3 MSP

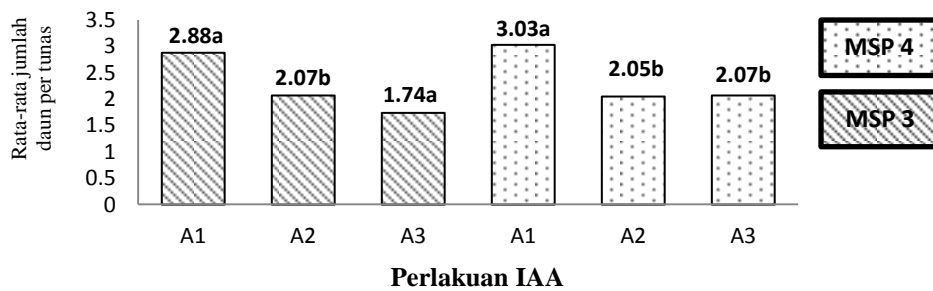
Gambar 2 menunjukkan bahwa perlakuan media dengan 0.43 mg L<sup>-1</sup> IAA dan 0.5 mg L<sup>-1</sup> BAP menunjukkan rata-rata jumlah tunas per eksplan tertinggi. Hal ini diduga karena sifat auksin untuk mengatur pemanjangan sel sehingga dapat memacu munculnya tunas dari kalus yang terbentuk. Sitokinin bersama auksin berperan dalam pertumbuhan tunas adventif pada kultur jaringan jika rasio auksin lebih rendah daripada sitokinin maka organogenesis mengarah ke tunas (Wiendi *et al.*, 1991).

Daun per tunas. Interaksi IAA dan BAP tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah daun per tunas eksplan epikotil. IAA berpengaruh nyata terhadap jumlah daun per tunas pada 3 MSP dan 4 MSP (Gambar 3). BAP tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah daun per tunas. Tabel 9 menjelaskan bahwa rata-rata jumlah daun per tunas tertinggi sampai 5 MSP didapatkan pada perlakuan komposisi media MS dengan 0.43 mg L<sup>-1</sup> IAA + 1.0 mg L<sup>-1</sup> BAP sebanyak 2.99 daun per tunas.



Tabel 9. Rata-rata jumlah daun per tunas eksplan epikotil sampai 5 MSP pada beberapa perlakuan media MS dengan penambahan IAA dan BAP

Perlakuan		Jumlah daun per tunas
IAA (mg L <sup>-1</sup> )	BAP (mg L <sup>-1</sup> )	
0.43		2.02
0.87	0.5	2.07
1.30		1.61
0.43		2.99
0.87	1.0	1.65
1.30		1.43
0.43		2.34
0.87	1.5	1.75
1.30		1.56



Keterangan:

A1 = 0.43 mg/L IAA; A2 = 0.87 mg/L IAA; A3 = 1.30 mg/L IAA

MSP 3 = Minggu ke-3 setelah perlakuan

MSP 4 = Minggu ke-4 setelah perlakuan

Gambar 3. Pengaruh tunggal IAA terhadap jumlah daun per tunas dari eksplan epikotil *Tagetes erecta* L.) kultivar African Crackerjack pada 3 MSP dan 4 MSP

Gambar 3 menunjukkan bahwa pada 3 MSP dan 4 MSP, faktor tunggal IAA berpengaruh nyata terhadap induksi daun eksplan epikotil. Peningkatan konsentrasi auksin cenderung menurunkan jumlah daun per tunas eksplan epikotil. Auksin bersifat dominansi apikal sehingga IAA cenderung menghambat pembentukan daun. Pergerakan auksin dalam jaringan tanaman bersifat polar (basipetal dan akropetal) yang mendukung dalam pemanjangan sel (*cell elongation*) diduga menjadi faktor tidak berkorelasi positifnya peningkatan konsentrasi IAA dengan jumlah daun per tunas (Wiendi *et al.*, 1991; Wattimena *et al.*, 1992; Arteca, 1995; Gaspar *et al.*, 1996; Davies, 2004).

Pembentukan akar. Pemberian IAA maupun BAP secara tunggal maupun kombinasi keduanya tidak berpengaruh nyata terhadap pembentukan akar eksplan epikotil. Tabel 10 menjelaskan bahwa perlakuan dengan media 1.30 mg L<sup>-1</sup> IAA + 0.5 mg L<sup>-1</sup> BAP menghasilkan jumlah rata-rata akar per tanaman tertinggi sebanyak 6.60. Belarmino *et al.* (1992) melaporkan bahwa perlakuan dengan komposisi MS ditambahkan dengan kombinasi 1.0 mg L<sup>-1</sup> NAA dan 0.2 mg L<sup>-1</sup> BA, dan MS ditambah 5.0 mg L<sup>-1</sup> NAA + 0.5 mg L<sup>-1</sup> BA 100% eksplan daun dan hipokotil *T. erecta* membentuk akar.

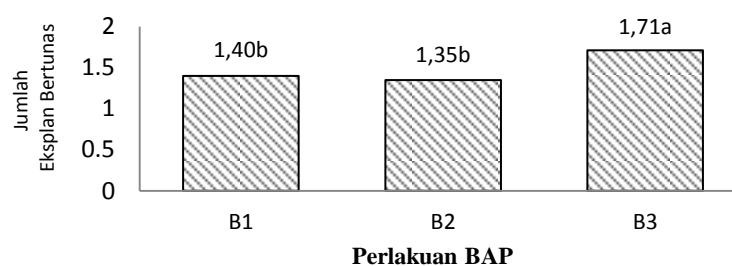
Tabel 10. Rata-rata jumlah akar per eksplan epikotil sampai 5 MSP pada beberapa perlakuan media MS dengan penambahan IAA dan BAP

Perlakuan		Jumlah akar
IAA (mg L <sup>-1</sup> )	BAP (mg L <sup>-1</sup> )	
0.43		4.60
0.87	0.5	5.40
1.30		6.60
0.43		4.13
0.87	1.0	5.13
1.30		3.67
0.43		4.27
0.87	1.5	4.87
1.30		4.93

*Proliferasi tunas adventif Tagetes (Tagetes erecta L.) kultivar African Crackerjack dengan penambahan BAP dengan GA3*

**Induksi kalus.** Rentang persentase eksplan aseptik epikotil, hipokotil, dan kotiledon adalah 33%-100%. Secara berurutan rata-rata persentase eksplan aseptik untuk hipokotil, epikotil, dan kotiledon adalah 82%, 75%, 68%. Interaksi BAP dan GA3 dan faktor tunggal keduanya tidak berpengaruh nyata terhadap persentase kalus pada eksplan kotiledon, hipokotil, dan epikotil. Rata-rata persentase kalus secara berurutan untuk epikotil, hipokotil, dan kotiledon adalah 60%, 48%, dan 46% (dalam rentang 17%-87%). Perlakuan yang tertinggi untuk menginduksi kalus pada eksplan epikotil adalah media MS dengan 1.73 mg L<sup>-1</sup> GA3 + 5 mg L<sup>-1</sup> BAP, sedangkan pada kotiledon dan hipokotil dengan perlakuan media MS dengan 0.86 mg L<sup>-1</sup> GA3 + 1.5 mg L<sup>-1</sup> BAP.

**Proliferasi tunas adventif.** Perlakuan media MS dengan penambahan kombinasi GA3 dan BAP berhasil memacu pembentukan tunas eksplan epikotil. Rata-rata persentase tertinggi eksplan epikotil membentuk tunas dan jumlah tunas per eksplan didapatkan pada perlakuan media MS dengan penambahan 1.73 mg L<sup>-1</sup> GA3 + 1.5 mg L<sup>-1</sup> BAP. Interaksi GA3 dan BAP tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah eksplan epikotil bertunas. Sementara faktor tunggal BAP berpengaruh nyata pada 4 MSP, namun GA3 tidak berpengaruh nyata. Interaksi GA3 dan BAP dan faktor tunggal GA3 tidak berpengaruh nyata terhadap pembentukan tunas per eksplan sampai 5 minggu pengamatan, sedangkan BAP berpengaruh nyata pada 3 MSP. BAP berpengaruh nyata terhadap proliferasi tunas adventif diduga karena BAP memacu pembelahan sel dan mempengaruhi lintasan diferensiasi sel tanaman (D'agostino dan Kieber, 1993; Gaspar *et al.*, 1996; Davies, 2004).



Keterangan:  
 B1 = 0,5 mg/L BAP ; B2 = 1,0 mg/L BAP ; B3 = 1,5 mg/L BAP

Gambar 4. Pengaruh tunggal BAP terhadap jumlah eksplan epikotil bertunas *Tagetes (Tagetes erecta L.)* pada 4 MSP

Tabel 11. Pengaruh faktor tunggal GA3 dan BAP terhadap jumlah tunas per eksplan *Tagetes (Tagetes erecta L.)* kultivar African Crackerjack

GA3 (mg L <sup>-1</sup> )	Rata-rata jumlah tunas eksplan epikotil				
	Minggu Setelah Perlakuan (MSP)				
	1	2	3	4	5
0.86	1.06	1.25	1.54	1.83	2.02
1.73	0.85	1.62	1.72	1.94	2.01
2.60	0.91	1.53	1.65	1.71	1.73
Uji F	tn	tn	tn	tn	tn
BAP (mg L <sup>-1</sup> )	Minggu Setelah Perlakuan (MSP)				
0.5	0.98	1.52	1.64	<b>1.78ab</b>	1.95
1.0	0.85	1.41	1.52	<b>1.64b</b>	1.66
1.5	0.98	1.47	1.75	<b>2.05a</b>	2.14
Uji F	tn	tn	tn	*	tn
KK (%) <sup>x)</sup>	23.8	25.4	19.7	20.7	20.8

Keterangan: tn= tidak berpengaruh nyata, \*= berpengaruh nyata pada taraf uji 5%, \*\*= berpengaruh nyata pada taraf uji 1%,<sup>x)</sup>= transformasi data  $(x+0,5)^{0,5}$

Daun per tunas. Pemberian GA3 maupun BAP secara tunggal maupun kombinasi keduanya tidak berpengaruh nyata terhadap pembentukan daun eksplan epikotil. Tabel 12 menjelaskan

bahwa perlakuan dengan komposisi media MS ditambah 0.86 mg L<sup>-1</sup> GA3 + 1.5 mg L<sup>-1</sup> BAP menginduksi jumlah daun tunas per tunas tertinggi dibanding dengan perlakuan lain sebanyak 2.43.

Tabel 12. Rata-rata jumlah daun per tunas eksplan epikotil sampai 5 MSP pada beberapa perlakuan media MS dengan penambahan BAP dan GA3

Perlakuan		Jumlah daun per tunas
GA3 (mg L <sup>-1</sup> )	BAP (mg L <sup>-1</sup> )	
0.86		1.66
1.73	0.5	0.86
2.60		1.34
0.86		2.00
1.73	1.0	1.22
2.60		0.81
0.86		2.43
1.73	1.5	1.62
2.60		1.85

Pembentukan akar. Perlakuan media MS dengan 1.73 mg L<sup>-1</sup> GA3 + 1.5 mg L<sup>-1</sup> BAP menghasilkan rata-rata pembentukan akar eksplan epikotil tertinggi sampai 5 MSP. Interaksi GA3 dan BAP tidak berpengaruh nyata terhadap

pembentukan akar. Faktor tunggal BAP tidak berpengaruh nyata terhadap pembentukan akar, sedangkan faktor tunggal GA3 berpengaruh nyata pada dua minggu terakhir pengamatan (Tabel 13).

Tabel 13. Pengaruh faktor tunggal GA3 dan BAP terhadap rata-rata jumlah akar eksplan epikotil *Tagetes* (*Tagetes erecta* L.) kultivar African Crackerjack sampai 5MSP

Faktor	Rata-rata jumlah akar				
	Minggu setelah perlakuan (MSP)				
GA3 (mg L <sup>-1</sup> )	1	2	3	4	5
0.86	0.0	3.0	4.8	<b>6.6a</b>	<b>7.5b</b>
1.73	0.0	3.1	5.0	<b>6.8a</b>	<b>7.7a</b>
2.60	0.0	2.6	3.8	<b>5.1b</b>	<b>5.6b</b>
Uji F	tn	tn	tn	*	*
BAP (mg L <sup>-1</sup> )	Minggu setelah perlakuan (MSP)				
0.5	0.0	2.6	4.0	6.0	7.0
1.0	0.0	2.4	4.3	7.2	8.0
1.5	0.0	3.7	5.4	5.4	6.0
Uji F	tn	tn	tn	tn	tn
KK (%) <sup>x)</sup>	22.5	21.5	20.3	16.4	15.7

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji Duncan taraf nyata 5%. tn= tidak berpengaruh nyata. <sup>x)</sup>= transformasi data  $(x+0.5)^{0.5}$

### KESIMPULAN

Dari percobaan pengembangan protokol sterilisasi benih, didapatkan metode sterilisasi benih dengan perendaman 75% ( $\frac{v}{v}$ ) Natrium Hipoklorat ( $\text{NaClO}_3$ ) selama 15 menit lalu direndam dengan 10% ( $\frac{v}{v}$ ) Natrium Hipoklorat ( $\text{NaClO}_3$ ) selama 10 menit, terbaik untuk sterilisasi benih *Tagetes* (*Tagetes erecta* L.) kultivar African Crackerjack. Kontaminan pada penelitian ini terdiri dari bakteri dan cendawan.

Berdasarkan hasil percobaan dua dan tiga, didapatkan eksplan epikotil terbaik untuk proliferasi tunas adventif *Tagetes* (*Tagetes erecta* L.) kultivar African Crackerjack. Hipokotil dan kotiledon tidak terproliferasi karena tidak membentuk kalus maupun tunas adventif karena mati akibat terjadi oksidasi fenol. Interaksi IAA dengan BAP berpengaruh nyata hanya pada induksi kalus pada eksplan epikotil, sementara

interaksi GA3 dengan BAP tidak berpengaruh nyata pada semua parameter pengamatan.

Media MS dengan penambahan 0.43 mg L<sup>-1</sup> IAA + 0.5 mg L<sup>-1</sup> BAP dan media MS dengan penambahan 0.87 mg L<sup>-1</sup> IAA + 0.5 mg L<sup>-1</sup> BAP terbaik dalam menginduksi tunas adventif eksplan epikotil. Proliferasi tunas adventif epikotil tertinggi juga didapatkan pada perlakuan media dengan komposisi MS ditambah 1.73 mg L<sup>-1</sup> GA3 + 1.5 mg L<sup>-1</sup> BAP.

Faktor tunggal IAA berpengaruh nyata terhadap eksplan bertunas pada 1 MSP, jumlah tunas per eksplan pada 3 MSP, dan induksi daun pada 4 MSP dan 5 MSP, sedangkan GA3 berpengaruh nyata pada pembentukan akar pada 4 MSP dan 5 MSP. Pada percobaan dua, BAP berpengaruh nyata pada induksi kalus pada 3 MSP, eksplan berkalus pada 3 MSP, dan jumlah tunas adventif pada 3 MSP, sedangkan pada percobaan tiga BAP berpengaruh nyata terhadap jumlah tunas adventif pada 4 MSP.

### DAFTAR PUSTAKA

- Arteca, R.N. 1995. Plant Growth Substances: Principle and Application. Chapman and Hall. New York. 332p
- Arteca R.N. 1995. Plant Growth Substances: Principle and Application. Chapman and Hall. New York. 332p.
- Belarmino, M.M., Abe, T., Sasahara, T. 1992. Callus induction and plant regeneration in African *Tagetes* (*Tagetes erecta* L.). *Jap. J. Breed.* 42(4): 835-841.
- Campbell, N.A., Reece, J.B., Urry, L.A., Cain, M.L., Wasserman, S.A., Minorsky, P.V., Jackson, R.B. 2008. Biology. 8th Edition. Pearson Education. Inc. San Francisco. 1267p.
- Cornelius, W.W., Wycliffe, W. 2016. *Tagetes* (*Tagetes minuta* L.) Oils. In: Preedy, V.R. (Ed.), Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety. Academic Press. 791–802.
- D'Agostino, I.B., Kieber, J.J. 1993. Molecular mechanisms of cytokinin action. Department of Biological Sciences. Laboratory for Molecular Biology. University of Illinois USA; Current

- Opinion in Plant Biology 1999. 2:359–364.
- Davies, P.J. 2004. Plant Hormones: Biosynthesis, transduction, action. Kluwer Academic Publisher. Dordrecht. 750p.
- Deka, B., Arjuna, A. 2014. Effect of plant growth regulators on in vitro propagation of *Tagetes erecta* L. *Int. J. Pharm. Bio. Sci.* 5(2): 319 – 332.
- Dukan, S., Belkin, S., Touati, D. 1999. Reactive oxygen species are partially involved in the bactericidal action of hypochlorous acid. *Arch. Biochem. Biophys.* 367: 311–316.
- Evans, D.A., Coleman, J.O.D., Keams, A. 2003. Plant Cell Culture. BIOS Scientific Publisher. New York. 174p.
- Gaspar, T., Kevers, C., Penel, C., Greppin, H., Reid, D.M., Thorpe, T.A. 1996. Plant Hormone and Plant Growth Regulators in Plant Tissue Culture. In *Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* 32:272-280.
- Gunson, H.E., Spencer-Phillips. 1994. Latent bacterial infections: Epiphytes and endophytes as contaminants of micropropagated plants. In: *Physiology. Growth and Development of Plants in Culture.* JR Nicholas. ed. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht. Netherlands. 379-396.
- Hernandez, T., Canales, M., Avila, J.G., Duran, A., Caballero, J., Romo de Vivar, A., Lira, R. 2003. Ethnobotany and antibacterial activity of some plants used in traditional medicine of Zapotitlán de las Salinas, Puebla (México). *J. Ethnopharmacology.* 88: 181-188.
- Hooks, C.R.R., Wang, K., Ploeg, A., McSolrey, R. 2010. Using Marigold (*Tagetes* spp.) as a cover crops from plant-parasitic nematodes. *App. Soil. Eco.* 46: 307-320.
- Karwani, G., Sisodia, S.S. 2015. *Tagetes erecta* plant: Review with significant pharmacological activities. *World. J. Pharma. Sci.* 3(6): 1180-1183.
- Miranda-Ham, M.L., Lizbeth, A., Castro-Concha, Avilez-Berzunza, A., Godoy-Hernandez, G. 2006. Plant Regeneration of Shoot Apex-Derived Calluses of Marigold (*Tagetes erecta* L.). *HortScience.* 41(6): 1518-1520.
- Misra, P., Datta, S.K. 1999. In vitro propagation of white *Tagetes* (*Tagetes erecta* L.) through shoot tip proliferation. *Curr. Sci.* 77:101-103.
- Moetamadi, H., Sayyednejad, S.M., Bakhtiari, A., Vafaei, M. 2015. *Tagetes erecta* L., A Potential Medicinal Plant for Discovering a New Antibacterial Agent. *Jentashapir. J. Health. Res.* 6(4): 20-24.
- Mohamed, M.A.H., Harris, P.J.C., Handerson. 1999. An efficient in vitro regeneration protocol for *Tagetes minuta*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture.* Kluwer Academic Publisher. 55: 211–215.
- Nakagawara, S., Goto, T., Nara, M., Ozawa, Y., Hotta, K., Arata, Y. 1998. Spectroscopic characterization and the pH dependence of bactericidal activity of the aqueous chlorine solution. *Anal. Sci.* 14: 691–698. Nikam, S.L., S.J. Khan. 2014. *In vitro* callus induction in leaf explants of *Tagetes erecta* L. *Int. J. Pharma. Biosci.* 5(4): 648-653.
- Odutayo, O.I., Amusa, N.A., Okutade, O.O., Ogunsanwo, Y.R. 2007. Sources of microbial contamination in tissue culture laboratories in southwestern Nigeria. *African. J. Agr. Res.* 2(3): 67-072.
- Osman, H.A., Taha, H.S., Youssef, M.M.A., El-Gindi, A.Y., Ammen, H.H., Lushein, A.M.S. 2012a. Establishment of calli cultures from different explants of *T. erecta* and *T. patula*. *J. App. Sci. Res.* 8(7): 3850-3854.

- Qi Y., Ye Y., Bao M. 2011. Establishment of plant regeneration system from anther culture of *Tagetes patula* L.. Afr. J. Biotechnol. 10(75): 17332-17338.
- Qureshi R.A., Ghufuran M.A., Gilani S.A., Sultana K., Ashraf M. 2007. Ethnobotanical studies of selected medicinal plants of Sudhan Gali and Ganga Chotti Hills, district Bagh, Azad Kashmir. Pakistani. J. Bot. 39(7): 2275-2283.
- Rajakumar N., Shivanna M.B. 2009. Ethno-medicinal application of plants in the eastern region of Shimoga district, Karnataka, India. J. Etnopharmacology. 126: 64-73.
- Sigee D.C. 1993. Bacteria and Plant Pathoges. In: Bacterial Plant Pathology; Cell and Molecular Aspects. D.C. Sigee. ed. Cambridge University Press. Cambridge. 325p.
- Surata I.K., Gata I.W., Sudiana I.M. 2015. Studi Etnobotanik Tanaman Upacara Hindu Bali sebagai Upaya Pelestarian Kearifan Lokal. J. Kajian Bali. 5 : No.2.
- Susiarti S. 2006. Pengetahuan dan pemanfaatan tumbuhan obat di Sabang - pulau Weh, Nangroe Aceh Darussalam. J. Tek. Ling (Edisi khusus). 198-199.
- Tomova B.S., Waterhouse J.S., Doberski J. 2005. The effect of fractionated *Tagetes* oil volatiles on aphid reproduction. Entomol. Exp. Appl. 115: 153-159.
- Toyomasu T., Kawaide H., Mitsihashi W., Inoue Y., Kamiya Y. 1998. Phytochrome regulates gibberillin biosynthesis during germination of photoblastic lettuce seeds. Plant Physiology. 118: 1517-1523.
- Vasudevan P., Suman K., Satyawati S. 1997. *Tagetes*: A multipurpose plant. Bioresource Technology. 7: 29-35.
- Wattimena G.A., Nurhajati A.M., Wiendi N.M.A., Purwito A., Efendi D., Purwoko B.S., Khumaida N. 2011. Bioteknologi: Dalam Pemuliaan Tanaman. IPB Press. Bogor.
- Wiendi N.M.A., Wattimena G.A., Gunawan L.W. 1991. Perbanyakan Tanaman. Hal.17-44. Dalam Tim Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman (Eds.). Bioteknologi Tanaman. Pusat Antar Universitas (PAU). Bogor.