

REGENERASI TANAMAN DARI BEBERAPA SUMBER EKSPLAN PADA MUTAN KACANG TANAH

Kumala Dewi, Masrizal dan Mugiono

Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi BATAN



ID0000167

ABSTRAK

REGENERASI TANAMAN DARI BEBERAPA SUMBER EKSPLAN PADA MUTAN KACANG TANAH. Kemampuan pembentukan kalus dan regenerasi dari masing-masing eksplan dan genotipe sangat beragam. Untuk itu dilakukan penelitian pembentukan kalus, spot hijau, dan pucuk pada mutan kacang tanah dengan media MS. Tiga macam eksplan yang berasal dari pucuk, embrio dan akar dari dua mutan kacang tanah, A/20/3 dan D/25/3/2, digunakan dalam penelitian ini. Eksplan ditumbuhkan dalam media kalus MS (Murashige & Skoog) selama kurang lebih 14 hari, kemudian kalus yang terbentuk dipindahkan ke media regenerasi. Tujuh hari setelah dipindahkan, diamati pembentukan spot hijau dan pucuk. Digunakan media MS yang dimodifikasi ditambah asam amino, vitamin dan hormon. Dari hasil pengamatan pada kedua mutan menunjukkan bahwa kemampuan tertinggi dalam pembentukan kalus, spot hijau dan pucuk terdapat pada eksplan yang berasal dari pucuk; kemudian baru eksplan yang berasal dari embrio. Kemampuan pembentukan kalus yang terendah terdapat pada eksplan yang berasal dari akar, dan tidak terbentuk spot hijau maupun pucuk pada kedua mutan tersebut. Kemampuan pembentukan kalus, spot hijau dan pucuk pada mutan A/20/3 lebih baik dari pada D/25/3/2.

ABSTRACT

PLANTS REGENERATION DERIVED FROM VARIOUS EXPLANTS ON PEANUT MUTAN LINES. The study of calli, greenspot formation and shoot regeneration on peanut mutan lines has been conducted by MS media. Three explants derived from shoot tips, embryo and seedling root of two mutan lines A/20/3 and D/25/3/2 were used in this experiment. The explants were cultured on modified MS media enriched by vitamins, growth regulator, amino acids for fourteen days and then the formed calli were transferred on regeneration media. The ability of calli formation and plant regeneration of each explants and genotypes of plants was varied. Greenspot and shoot formation were observed seventh days after the calli transferred on regeneration media. It is shown that the ability of calli, greenspot and shoot formation of each explants and genotypes was varied. The high ability of calli, greenspot and shoot formation were found in explant derived from shoot tip and embryo. Seedling root explant has lower ability in calli formation, while greenspot and shoot was not formed. The ability of calli, greenspot and shoot formation on A/20/3 mutant line was better than D/25/3/2 mutant line.

PENDAHULUAN

Kultur jaringan adalah suatu cara untuk memperbanyak tanaman dari bagian tanaman itu sendiri menjadi tanaman lengkap dalam kondisi yang aseptik dan terkendali (1). Perbanyak tanaman secara in-vitro dapat dilakukan melalui multiplikasi (perbanyak) tunas dari mata tunas aksilar; pembentukan tunas adventif dan pembentukan tunas melalui somatik embrio adventif. Ketiga cara tersebut dapat dilakukan secara langsung yaitu pembentukan tanaman melalui jaringan eksplan atau secara tidak langsung yaitu pembentukan tanaman melalui tahapan pembentukan kalus. Pembentukan tanaman melalui kalus memerlukan beberapa tahapan yaitu terbentuknya spot hijau, pucuk dan kemudian planlet. Planlet tersebut sebelum di pindahkan ke lapangan memerlukan aklimatisasi terlebih dahulu di laboratorium atau rumah kaca.

Faktor genotipe dan sumber eksplan sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan dan morfogenesis kultur jaringan (1, 2). Semua bagian tanaman yang masih muda (juvenile) yang keadaan sel-selnya masih aktif membelah, merupakan bagian tanaman yang paling baik untuk sumber

eksplan. Setiap-sel yang diambil dari bagian tanaman yang masih muda atau yang sudah dewasa mempunyai karakteristik yang berbeda. Kalus yang berasal dari eksplan jaringan muda pada tanaman *Hedora helix*, ukuran selnya lebih besar, laju pertumbuhannya tinggi dan lebih mudah menghasilkan sel-sel baru bila dibandingkan dengan kalus yang berasal dari jaringan dewasa.

Kalus dari jaringan muda lebih mudah membentuk tunas adventif, sedang kalus yang berasal dari jaringan dewasa lebih banyak membentuk embrio somatik. Pucuk yang diambil dari tanaman dewasa mempunyai daya multiplikasi lambat jika dibandingkan dengan pucuk yang berasal dari tanaman muda atau kecambah. Bagian-bagian tanaman seperti pucuk, petal, anter dan batang dari tanaman *Jasminum* juga mampu membentuk kalus, namun hanya yang berasal dari pucuk yang mampu ber-regenerasi dan membentuk tunas (1).

Penggunaan bagian tanaman kacang tanah dalam penelitian kultur jaringan belum banyak dilaporkan. Dalam makalah ini dilaporkan hasil penelitian pendahuluan penggunaan bagian tanaman kacang tanah dalam kultur jaringan untuk membentuk tanaman baru.

BAHAN DAN METODA

Sumber eksplan. Dua galur mutan kacang tanah yaitu A/20/3 dan D/25/3/2 yang masing-masing berasal dari radiasi AH-1781-Si dengan dosis 0,20 KGy dan varietas Pelanduk yang diradiasi dengan dosis 0,25 KGy digunakan dalam penelitian ini. Tiga macam bagian tanaman yaitu pucuk kecambah, embrio, dan ujung akar kecambah digunakan sebagai eksplan dalam penelitian ini.

Untuk mendapatkan sumber eksplan dari pucuk dan akar kecambah, benih mutan kacang tanah tersebut disterilkan dengan $HgCl_2$ 0,2% selama 15 menit kemudian dibilas dengan air steril sampai bersih, selanjutnya dikecambahkan pada media agar yang sudah disterilkan. Sesudah 5–7 hari pucuk dan akar yang keluar digunakan sebagai eksplan. Akar atau pucuk dipotong sepanjang 2-3 mm, dan ditumbuhkan di dalam media selama lebih kurang 14 hari untuk mendapatkan kalus.

Untuk mendapatkan sumber eksplan yang berasal dari embrio, benih mutan disterilkan dengan $HgCl_2$ selama 15 menit kemudian dibilas dengan air steril sampai bersih dan selanjutnya direndam selama lebih kurang 2 jam. Sesudah itu embrio diambil dengan menggunakan scalpel dan ditumbuhkan pada media yang sama seperti eksplan pucuk dan akar yaitu selama 14 hari.

Media pertumbuhan. Kalus yang terbentuk dari ketiga sumber eksplan tersebut diinduksi dalam media MS Untuk menginduksi kalus digunakan media MS (3) yang dimodifikasi dengan penambahan hormon 2,4-D 1 mg.L^{-1} , glutamin 10 mg.L^{-1} , agar $7,6\text{ g.L}^{-1}$, dan sukrosa 30 g.L^{-1} . Sebelum disterilkan dengan autoklaf selama 15 menit, pH media diatur menjadi 5,8. Sesudah 14 hari diamati persentase kalus yang terbentuk dan selanjutnya kalus-kalus tersebut dipindahkan ke media regenerasi. Media regenerasi sama dengan media kalus dengan menambahkan hormon BAP $0,5\text{ mg.L}^{-1}$. Spot hijau yang terbentuk diamati lima hari sesudah kalus dipindahkan ke media regenerasi, sedangkan pucuk yang terbentuk diamati pada hari ke lima belas. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap dengan 4 ulangan dan dalam setiap ulangan jumlah sampel yang diamati sebanyak 20. Sebelum dianalisis, data ditransformasi dengan $\sqrt{(y/100)}$ (4).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari analisis sidik ragam (Tabel 1), pengaruh mutan sangat berbeda nyata pada kalus yang dihasilkan, akan tetapi tidak ada pengaruh kepada spot hijau dan pucuk. Pengaruh eksplan sangat berbeda nyata baik pada pembentukan kalus, spot hijau maupun pada pucuk, akan tetapi tidak ada pengaruh nyata interaksi antara mutan dengan eksplan yang digunakan pada kalus, spot hijau, dan pucuk yang terbentuk.

Kalus yang terbentuk dari ke tiga sumber eksplan yang digunakan, mulai terlihat pada hari ke tujuh. Dari kedua mutan tersebut terlihat bahwa persentase kalus yang terbentuk dari eksplan pucuk mutan A/20/3 lebih tinggi dari pada mutan D/25/3/2 yaitu masing-masing sebesar 69,50 % dan 62,97 % (Tabel 2). Perbedaan ini disebabkan karena pembentukan kalus dipengaruhi oleh genotipe dari

tanaman. Hal yang serupa juga terjadi pada padi gogo (2); dan barley (5). Persentase kalus yang terbentuk yang berasal dari eksplan embrio tidak berbeda antara kedua mutan, yaitu sebesar 42,68 % pada A/20/3 dan 38,04 % pada D/25/3/2. Jumlah kalus yang terbentuk yang berasal dari eksplan ujung akar kecambah juga tidak berbeda antara mutan A/20/3 dengan mutan D/25/3/2 yaitu masing-masing sebesar 23,22% dan 20,41%. Walaupun jumlah kalus yang terbentuk yang berasal dari embrio dan ujung akar kecambah pada kedua mutan tersebut tidak menunjukkan perbedaan yang nyata, akan tetapi jumlah kalus yang terbentuk pada A/20/3 cenderung lebih tinggi bila dibandingkan dengan D/25/3/2 (Tabel 2). Secara keseluruhan tampak bahwa jumlah kalus yang terbentuk dari sumber eksplan pucuk lebih tinggi jika dibandingkan dengan eksplan dari embrio atau ujung akar. Hal ini mungkin karena pucuk pertumbuhan sel-selnya lebih cepat dan selnya lebih aktif membelah sehingga jumlah kalus yang terbentuk lebih banyak, sedangkan sel-sel pada embrio relatif tidak membelah sehingga kalus yang terbentuk lebih sedikit. Eksplan dari akar, ukurannya relatif lebih kecil bila dibandingkan dengan yang lain. Eksplan yang ukurannya kecil, apabila di kulturkan pada media, jumlah kalus yang terbentuk relatif lebih sedikit dan ukurannya kecil.

Empat belas hari setelah eksplan ditanam pada media, kalus yang terbentuk dipindahkan ke media regenerasi. Tujuh hari setelah dipindahkan, terbentuk spot hijau pada kalus dan dua puluh hari kemudian berkembang menjadi pucuk. Hal yang serupa juga terjadi pada tanaman padi gogo (2), dan padi sawah (6,7). Selanjutnya sebagian kalus yang tidak dapat membentuk spot hijau, warnanya berubah menjadi kecoklatan dan berangsur-angsur mati. Kalus seperti ini adalah kalus non embriogenik yang tidak bisa berkembang menjadi tanaman baru.

Penggunaan cahaya flouresen dari lampu TL pada ruang inkubasi, bertujuan agar sel-sel kalus dapat membentuk kloroplas. Terbentuknya spot hijau pada kalus merupakan awal terjadinya morfogenesis. Dengan menambahkan sitokinin dalam medium akan mendorong pertumbuhan dan morfogenesis jaringan tanaman serta meningkatkan pembentukan kloropil pada kalus. Untuk mendorong diferensiasi kloroplas dan pembentukan kloropil, kebanyakan tanaman menghendaki pencahayaan yang singkat. Cahaya flouresen dari lampu TL akan memberikan cahaya dengan panjang gelombang yang dibutuhkan untuk morfogenesis.

Spot hijau yang terbentuk dari eksplan pucuk kecambah pada mutan A/20/3 sebesar 44,17% dan 40,17% pada D/25/3/2, sedangkan yang berasal dari eksplan embrio, pada A/20/3 hanya sebesar 12,40% dan 7,26 % pada D/25/3/2 (Tabel 2). Seperti halnya dengan jumlah kalus yang terbentuk, persentase jumlah spot hijau yang terbentuk pada mutan A/20/3 lebih tinggi dari pada mutan D/25/3/2. Eksplan dari ujung akar kecambah tidak mampu membentuk spot hijau pada kedua mutan tersebut.

Pembentukan pucuk pada media regenerasi mutan kacang tanah mulai terlihat pada hari ke 20. Tunas kecil-kecil muncul dari dalam spot hijau, lama kelamaan bertambah besar dan akan membentuk pucuk. Pada tanaman asparagus didapatkan bahwa kalus yang dipindahkan ke

media regenerasi, setelah 4 hari kemudian berangsur-angsur berubah menjadi hijau (8). Pada hari ke tujuh, warna kalus menjadi lebih hijau karena klorofil pada kalus lebih aktif berdeferensiasi. Pada hari ke lima belas tunas-tunas kecil yang akan menjadi pucuk tumbuh dan muncul dari dalam kalus. Apabila kalus yang sudah membentuk spot hijau ini dipindahkan ke media bebas yang hormon tidak membentuk tunas kecil, melainkan berangsur-angsur berubah menjadi kecoklatan dan selanjutnya secara pelan-pelan akan mati. Hal yang sama juga ditemukan pada asparagus (8). Eksplan pucuk membentuk pucuk sebesar 25,44% pada A/20/3 dan 16,35% pada D/25/3/2. Sedangkan eksplan embrio, persentase pembentukan pucuk sebesar 8,37% pada A/20/3 dan 6,63% pada D/25/3/2 (Tabel 2). Eksplan dari ujung akar, tidak membentuk pucuk sama sekali untuk kedua mutan tersebut. Perbedaan kemampuan membentuk spot hijau dan pucuk pada kedua mutan tersebut disebabkan karena perbedaan sumber eksplan. Secara keseluruhan, kecuali persentase pembentukan kalus dari eksplan pucuk, mutan A/20/3 tidak berbeda nyata dengan mutan D/25/3/2 dalam pembentukan kalus, spot hijau, dan pucuk, dari sumber eksplan yang sama.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat diambil kesimpulan bahwa eksplan yang berasal dari pucuk mempunyai kemampuan lebih baik dalam pembentukan kalus, spot hijau dan pucuk. Pucuk merupakan eksplan yang baik untuk mendapatkan tanaman kacang tanah melalui kultur jaringan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada saudara Yuliasti, saudara Parno dan kepada semua pihak yang telah membantu hingga terwujudnya tulisan ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. NI MADE ARMINI; G.A. WATTIMENA; LIVY WINATA GUNAWAN. Perbanyakan Tanaman. Dalam : Bioteknologi Tanaman. Pusat Antar Universitas, Bioteknologi IPB (1991) 165-211.
2. ISHAK DAN SOERANTO, Regenerasi galur *in-vitro* mutan padi gogo Sm-128/19 dan MG 4. Zuriat, 5,2 (1994) 1-7.
3. Murashige, T. AND F. SKOOG. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15 (1962) 473-497.
4. STEEL, R. G. D. and J. H. TORRIE. Principle and Procedures of Statistics: A Biometrical Approach, 2nd edition, Mc Graw Hill Book Co. Inc., New York, USA (1980).
5. BREGITZER, P., Plant Regeneration and Callus Type in Barley: Effects of Genotype and Culture Medium. *Crop Science*, 32 (1992) 1108-1112.

6. ISHAK DAN SOERANTO, Pembentukan Kalus dan Regenerasi tanaman Mutan Padi (*Oryza sativa L.*) Var. Atomita 1 dan Atomita 2. Dalam: Risalah Pertemuan Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi dalam Bidang Industri, Pertanian dan Lingkungan. BATAN (1993) 187-192.
7. LILIK HARSANTI DAN ISHAK. Pembentukan Spot Hijau dan Regegerasi Pucuk Mutan Padi (*Oryza sativa L*) Secara In-vitro. Seminar Nasional Biologi XV, Perhimpunan Biologi Indonesia, Bandar Lampung, (1997) 77-80.
8. ISHAK, Pengaruh Radiasi Sinar Gamma Pada Kalus Terhadap Regenerasi Tanaman Asparagus (*Asparagus officinalis L.*). Dalam: Risalah Pertemuan Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi dalam Bidang Industri, Pertanian dan Lingkungan. BATAN (1994).

Tabel 1. Analisis sidik ragam jumlah kalus, spot hijau dan pucuk yang terbentuk dari berbagai sumber eksplan pada mutan kacang tanah

Sumber	Derajat bebas	KT Kalus	KT Spot Hijau	KT Pucuk
Mutan	1	130,387**	52,038	75,615
Eksplan	2	3982,512**	3923,957**	905,0**
M x E	2	6,901	14,06	44,608
Galat	18	14,704	27,185	31,126

** Berbeda nyata pada taraf 0,01

Tabel 2. Rata-rata persentase jumlah kalus, spot hijau dan pucuk yang terbentuk dari berbagai sumber eksplan pada mutan kacang tanah

Eksplan	Mutan	Kalus	Spot Hijau	Pucuk
Pucuk	A/20/3	69,50 a	44,17 a	25,44 a
Pucuk	D/25/3/2	62,97 b	40,17 a	16,35 a
Embrio	A/20/3	42,68 c	12,40 b	8,37 b
Embrio	D/25/3/2	38,04 c	7,26 b	6,63 b
Akar	A/20/3	23,22 d	0 c	0 c
Akar	D/25/3/2	20,41 d	0 c	0 c
BNT 0,05		5,70	7,75	8,29
KK (%)		8,96	29,91	58,74

Angka dalam kolom yang sama yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata pada uji BNT pada taraf 0,05

DISKUSI

DWI ADI SUNARTO

Notasinya ada yang salah, perlu dikoreksi kembali.

KUMALA DEWI

Terima kasih atas koreksinya.

HARSOJO

Sampai berapa generasi tanaman yang dihasilkan akan sama dengan induknya. Kalau selalu akan = induknya, apakah dapat dibuat generasi baru yang lebih baik daripada induknya ?

KUMALA DEWI

Kalau tanaman yang dihasilkan berasal dari jaringan vegetatif, akan selalu sama dengan induknya. Generasi baru bisa dibuat.

ROSMIARTI A. WAHID

1. Dari ke-tiga eksplan yang digunakan pada penelitian ini setelah tahanan penanaman kalus yang terinduksi pada media regenerasi apakah pucuk yang muncul dalam bentuk planlet lengkap ?
2. Yang berasal dari eksplan pucuk apakah ada kemungkinan munculnya pucuk berasal dari potensi mikropropagasi ?

KUMALA DEWI

1. Ya, akan terbentuk planlet lengkap.
2. Ada, pada media regenerasi kadang-kadang muncul pucuk yang berasal dari mikropropagasi.

SUHARNI SADI

Dapatkah diterangkan mengapa kemampuan tertinggi pada pembentukan kalus, spot hijau dan pucuk adalah berasal dari pucuk kecambah dibandingkan dengan embrio ?

KUMALA DEWI

Pucuk merupakan organ yang aktif membelah sehingga bisa membentuk kalus yang paling banyak, bila dibandingkan dengan yang berasal dari embrio.

IKA M.

1. Pada latar belakang dibahas keuntungan k, jar bebas virus, perbanyak dli. Apakah penelitian kacang tanah untuk perbanyak ? Bila memakai embrio hasilnya (sifat genetik) akan berada dengan pohon induk ?
2. Tujuan radiasi hubungannya dengan penelitian ini ? (berbeda dengan bahasan dalam latar belakang)
3. Apa yang dimaksud dengan spot hijau ?
4. Apa yang dimaksud dengan pucuk apa sama dengan tunas terminal ?

KUMALA DEWI

1. Penelitian ini untuk menentukan optimasi regenerasi pada tanaman kacang tanah.
2. Radiasi digunakan untuk menginduksi mutasi pada tanaman, sehingga terbentuk mutan, dan mutan ini dipakai sebagai bahan penelitian ini.
3. Spot hijau yang dimaksud dalam penelitian ini adalah titik hijau yang terbentuk pada kalus yang nantinya akan membentuk tanaman baru atau bisa juga berangsur-angsur menjadi coklat atau mati.
4. Yang dimaksud pucuk dalam hal ini adalah pucuk yang nantinya akan membentuk tanaman baru.

ENDANG GATI LESTARI

1. Apakah yang Anda maksudkan sebagai mutan dalam percobaan tersebut, bagaimana cara mengujinya bahwa benih tersebut betul-betul mutan ?
2. Alasan Anda menggunakan ke-3 macam eksplan tersebut apa ? Kalau tujuannya untuk perbanyak vegetatif saja, mengapa menggunakan eksplan embrio ? Apakah ada tujuan lain ?
3. Media yang digunakan untuk 3 eksplan tersebut apa saja ? Apakah sama ? tentunya untuk pembentukan tunas memerlukan media dan zat pengatur tubuh yang berbeda untuk eksplan yang berbeda ?

KUMALA DEWI

1. Yang dimaksud mutan dalam percobaan ini adalah tanaman yang sudah mengalami perubahan-perubahan sehingga mempunyai sifat-sifat yang lebih baik daripada induknya. Benihnya diambil mutan secara langsung.
2. Penggunaan eksplan untuk mengetahui optimasi regenerasi pada kacang tanah.
3. Media yang digunakan untuk ke-3 eksplan tersebut sama. Media untuk kalus dan media untuk regenerasi sama yaitu, berasal dari media MS, hanya hormonnya yang berbeda.