KULTUR JARINGAN TANAMAN DAN PERKEMBANGANNYA DI JURUSAN BUDI DAYA PERTANIAN - IPB

(PLANT TISSUE CULTURE AND ITS DEVELOPMENT IN THE DEPARTMENT OF AGRONOMY - IPB)

Oleh

Livy Winata *)

Abstract: Tissue culture is one of the important aspects of Biotechnology. The concept and common goals of plant tissue culture were reviewed. The brief history of tissue culture activities in the Department of Agronomy, its potential and limitation were discussed.

Despite the meager equipment and supplies, S_1, S_2 students and staff, have established the *in vitro* method of various important crops. The practical purposes of this success, the future research and development plan, and the contribution to the national program were also discussed.

Ringkasan: Kultur jaringan merupakan salah satu aspek yang penting dalam bidang Bioteknologi. Tulisan ini merupakan tinjauan dari konsep dan tujuan umum kultur jaringan tanaman serta kegiatan penelitian di Jurusan Budi Daya Pertanian. Sejarah singkat, potensi dan faktor pembatasnya dibahas.

Dengan fasilitas serba terbatas, mahasiswa S_1, S_2 dan Staf telah berhasil memantapkan metoda in vitro dari beberapa tanaman penting. Arti dari keberhasilan ini, rencana penelitian dan pengembangannya, serta kemungkinan sumbangannya dalam pembangunan pertanian juga dibahas.

PENDAHULUAN

Metoda kultur jaringan yang pada mulanya hanya suatu penelitian fisiologi, dewasa ini telah menduduki posisi yang penting dalam perkembangan pertanian. Melalui metoda ini, tanaman yang kompleks dapat dipecahkan menjadi komponen individu dasarnya. Dengan mengintegrasikan biokimia, biologi (sel dan molekul) serta

*) Staf Pengajar Jurusan Budi Daya Pertanian, Fakultas Pertanian, IPB

fisiologi, komponen-komponen seperti protoplast, sel sematik dan generatif, dan organ dapat diisolasi, dimanipulasi, dan kemudian dikembalikan lagi ke tanaman lengkap dalam suatu lingkungan kultur yang aseptik. Berbagai faktor seperti bagian tanaman, nutrien, hormon dan lingkungan fisik saling berinteraksi menentukan arah pertumbuhan dan perkembangannya. Tujuan praktis metoda ini adalah: perbanyakan klon secara cepat dan dalam jumlah besar, perbanyakan tanaman yang bebas penyakit, membantu dalam seleksi dan pemuliaan tanaman, koleksi dan konservasi tanaman serta kemungkinan produksi bahan untuk ramuan obat-obatan dan bumbu untuk keperluan industri.

Aplikasi metoda kultur jaringan yang paling berkembang sampai saat ini adalah penyediaan bibit seragam dan bebas penyakit untuk penanaman masal. Dengan kombinasi lingkungan fisik dan kimia yang tepat, sel atau organ dapat dipacu untuk menghasilkan individu-individu baru melalui pembentukan pucuk adventif, pucuk majemuk, atau embrio somatik. Anggrek adalah tanaman yang pertamakali berhasil diperbanyak melalui kultur jaringan. Berdasarkan kecepatan penggandaannya, Morel (1960), memproyeksikan sebanyak 4 juta tanaman *Cymbidium* dapat dihasilkan dari satu meristem dalam jangka waktu satu tahun. Lebih jauh lagi, dengan kultur meristem berukuran $\leqslant$ 0.1 mm, anggrek yang dihasilkan dapat bebas dari virus-virus yang berkembang dalam tubuh tanaman asalnya. Dalam prakteknya level produksi setinggi itu memang sukar tercapai. Faktor pembatasnya adalah kontaminasi yang timbul sepanjang masa penanaman. Tetapi tidak dapat disangkal bahwa, walaupun hanya 25 persen yang mencapai tanaman siap ke lapangan, jumlah satu juta merupakan produksi yang tidak dapat dicapai dengan pemecahan anakan yang umum dilakukan.

Asparagus officinalis adalah tanaman lain yang sudah diproduksi secara masal dengan kultur jaringan. Menurut laporan Yang (1977), seorang tenaga yang trampil, yang bekerja 200 hari/tahun, dapat menghasilkan 70.000 tanaman dari 1 pucuk *Asparagus*. Sedangkan dalam strawberry, Boxus, Quiorin dan Laine (1979) mendapatkan 15-25 pucuk per kultur dalam 6-8 minggu. Di atas permukaan semuas 3 m^2 yang efektif sepanjang tahun, mereka menghasilkan jutaan tanaman per tahun dari beberapa pucuk awal. Dengan perbanyakan ini, harga bibit sekitar 0.06 US $. Secara tradisional, petani mendapatkan sekitar 10 runner dari 1 rumpun tanaman yang dijadikan bibit per musim. Dengan level produksi seperti itu, ditambah dengan biaya pemeliharaan di lapang, harga bibit menjadi sangat tinggi.

Variabilitas genetik yang secara konvensional diperoleh melalui rekombinasi DNA dengan persilangan, dapat lebih efektif diarahkan melalui kultur haploid, mutagen, fusi protoplast, dan transfer gen dari sel yang satu ke yang lainnya. Sumbangan nyata yang diberikan kultur jaringan adalah tanaman homozygot dari kultur tepung sari. Sel-sel haploid setelah digandakan khromosomnya dan diregenerasikan kembali ke tanaman, merupakan tetua yang penting dalam produksi biji hibrida. Keller dan grupnya dari Agriculture Canada bekerjasama dengan Allied Chemical Canada, dewasa ini sedang mengamati "doubled haploid" dari genus *Brassica* untuk produksi biji hibrida secara besar-besaran (Anonimous, 1984).

Melalui kultur kalus dengan auksin kuat sering juga diperoleh variasi genetik yang berguna. Dalam tebu, Heinz et. al. (1979), melaporkan bahwa sel-sel dari kalus yang diinduksi dari varietas H50-7209, mempunyai jumlah khromosom 70 - 300. Jumlah khromosom varietas H50-7209 sendiri adalah 2n = 108-128. Individu yang berbeda genetiknya ini menunjukkan pertumbuhan dan perkembangan yang berbeda. Bahkan menunjukkan perbedaan resistensi terhadap penyakit.

Genetika pertanian dengan pendekatan dari level sel dan molekul melalui hibridisasi somatik, penggunaan media selektif, mutagenesis dan transformasi gen menunjukkan potensi besar dalam perbaikan tanaman (crop improvement). Melalui metoda ini, banyak variant-variant baru yang dihasilkan. Kestabilan, keefektifan, dan sifat penurunan variant-variant tersebut masih terus dipelajari.

Dalam hubungan dengan genetik dan perbaikan tanaman, kultur jaringan juga dipergunakan untuk koleksi dan konservasi plasma nutfah. Keuntungan koleksi plasma nutfah melalui kultur jaringan adalah penghematan area kebun koleksi dan pemeliharaan. Tiap individu hanya memerlukan botol kultur berukuran 4.5 x 8 cm, tanpa memerlukan pemberian air, pemupukan dan pengendalian hama penyakit. Untuk penyimpanan jangka pendek, kultur ditumbuhkan pada temperatur antara 0 - 10°C. Kultur *Vitis rupestris* yang disimpan dalam ruangan bertemperatur 9°C, hanya disubkultur setahun sekali (Galzy, 1969 <u>dalam</u> Withers, 1980), sedangkan kultur *Fragaria vesca* dapat disimpan sampai 6 tahun pada temperatur -1 sampai -6°C dalam gelap (Mullin & Schlegel, 1976). Untuk penyimpanan jangka panjang, diusahakan pembekuan dengan nitrogen cair. Yang disimpan adalah sel-sel/kalus yang kompeten, mampu berdiferensiasi apabila dikembalikan ke temperatur kamar.

Kenyataan lain bahwa sel tanaman adalah tempat biosintesa dan biotransformasi, telah dieksploitasi untuk menghasilkan persenyawaan yang diinginkan dalam kultur *in vitro* yang terkendali. Capsaicin telah dihasilkan dalam jumlah yang berarti dari sel *Capsicum frutescens* apabila ke dalam media tumbuh ditambahkan precursor vanilylamine dan isocarpic acid (Yeoman <u>et al.</u>, 1980). Juga persenyawaan S-trans-prop-1-enyl-L-cysteine sulfoxide yang apabila bereaksi dengan enzim alinase membentuk persenyawaan yang memberi aroma khas pada bawang, dapat diproduksi dalam kultur sel bawang (Turnbull, Galpin & Collin, 1980). Penelitian di Jepang lebih diarahkan pada produksi bahan-bahan farmasi seperti saponin dari *Panax ginseng*, digitoxin dari *Digitaria purpurea*, steroid dari *Dioscorea deltoidea* dan antibiotik dari *Phytolacca americana* (Tabata, 1977 dan Misawa, 1977). Penelitian peningkatan produksi dalam kultur diusahakan secara sungguh-sungguh agar ketergantungan pada tanaman di lapangan dapat dikurangi.

Aplikasinya yang luas serta kemungkinan kaitannya dengan industri menjadikan kultur jaringan tanaman suatu aspek yang penting dalam bioteknologi, sejajar dengan: teknologi enzim/protein engineering, fermentasi, vaccine dan monoclonal antibiodies. Menurut Board on Science and Technology for International Development di Washington, tehnologi ini menjanjikan jawaban-jawaban terhadap masalah pertanian yang timbul di negara yang sedang berkembang.

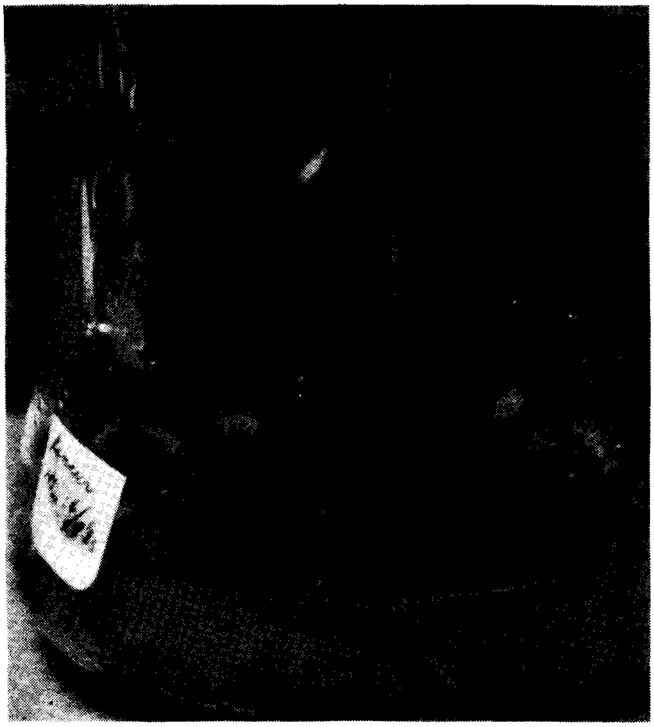
KULTUR JARINGAN DI JURUSAN BUDI DAYA PERTANIAN

Kegiatan kultur jaringan di Jurusan Budi Daya Pertanian (dahulu Agronomi), dimulai pada tahun 1976, dengan mencoba menumbuhkan embrio kelapa kopyor. Kegiatan ini tidak teratur dan menggunakan sebagian besar fasilitas bagian fisiologi tumbuhan. Namun demikian, kegiatan ini menghasilkan dua tanaman yang kemudian mati pada waktu pemindahan ke tanah. Pada tahun 1978, jurusan memiliki peralatan sendiri yang sederhana, dan pada tahun 1982 unitnya ditambah atas usaha berbagai pihak. Dewasa ini jurusan memiliki 3 unit peralatan transfer dan 3 unit alat sterilisasi kapasitas 21 yang sederhana. Tetapi jumlah ini masih belum dapat mengimbangi kenaikan jumlah mahasiswa yang melakukan penelitian kultur jaringan.

Dengan peralatan dan biaya yang serba terbatas, mahasiswa S_1, S_2 dan staf telah berhasil memantapkan metoda *in vitro* untuk beberapa tanaman penting seperti: anggrek, kentang, tomat, selada, pisang, kencur, tebu, *Petunia hibrida* dan cantaloup (Gambar 1-9). Penanganan materi dari lapangan, pemilihan eksplan, pemilihan media kultur dan lingkungan serta aklimatisasi bibit

Gb. 1. Kultur pisang tanduk berumur 10 minggu

Fig. 1. Ten-week-old plantain culture



Gb. 2. Kencur sesudah 10 minggu dalam kultur

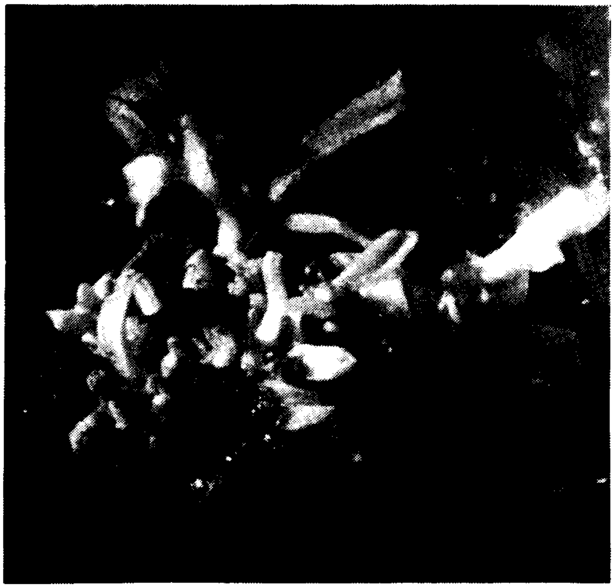
Fig. 2. Ten-week-old *Kaemferia galanga* culture

Gb. 3. Tebu varietas Pasuruan 56

Fig. 3. Sugarcane var. Pasuruan 56.

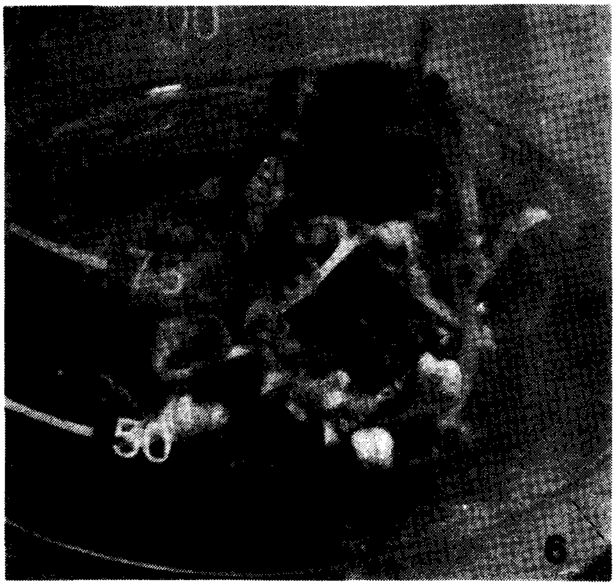
Gb. 4. Anggrek *Dendrobium* dalam tabung berukuran 4 x 8 cm.

Fig. 4. *Dendrobium* orchid in 4 x 8 cm vial.



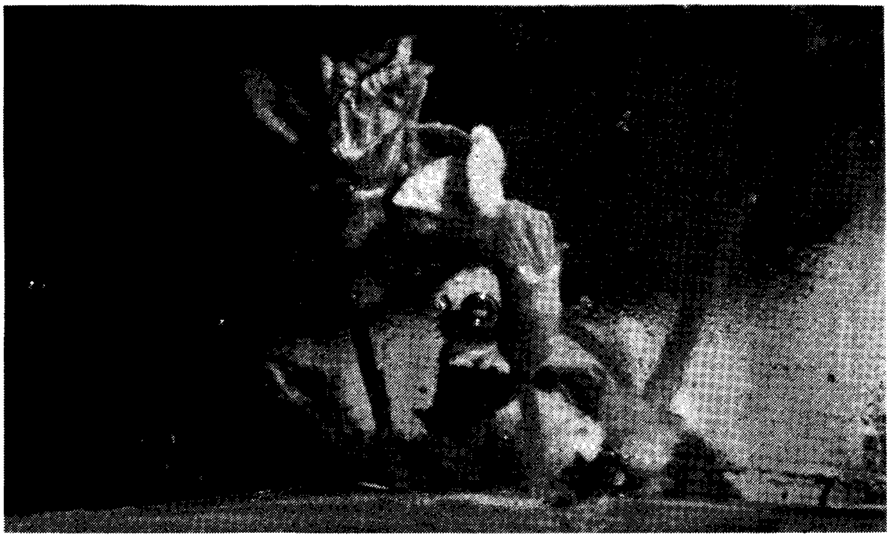
Gb. 5. Salada, berasal dari kotiledon pada umur 4 minggu

Fig. 5. Four-week-old lettuce initiated from cotyledon



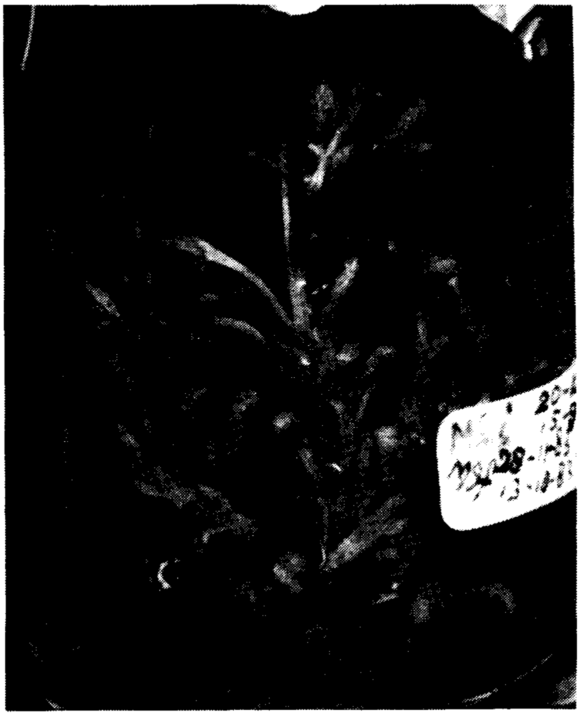
Gb. 6. Kotiledon tomat var. Intan yang membentuk pucuk

Fig. 6. Shoot forming cotyledon ot tomato var. Intan



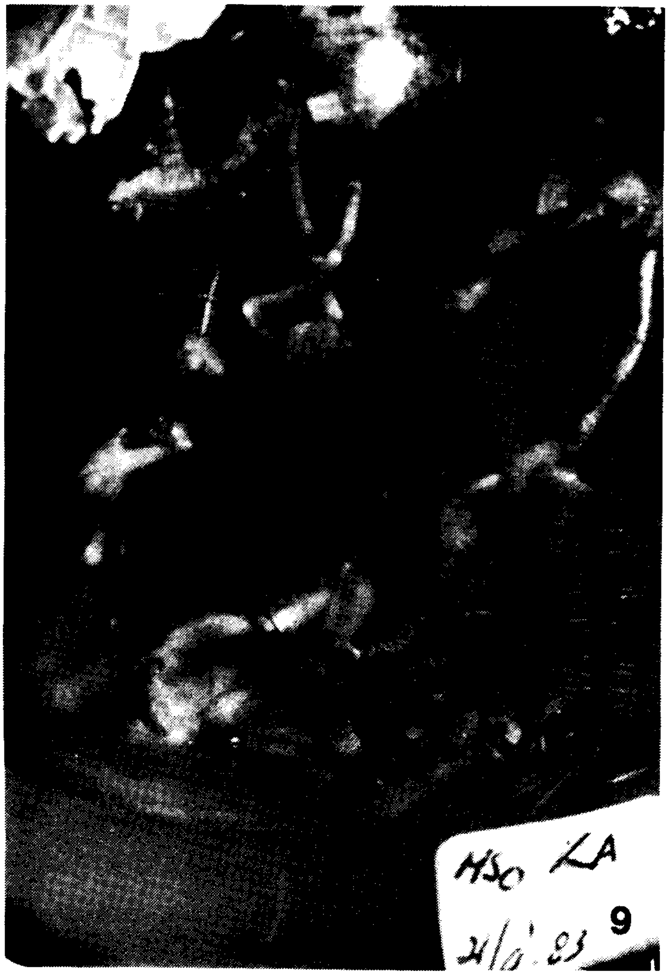
Gambar 7. Kultur cantaloup yang membentuk bunga jantan secara *in vitro*

Figure 7. *In vitro* male flower developed in cantaloup culture



Gb. 8. Kultur *Petunia hibrida*

Fig. 8. Culture of *Petunia hibrida*



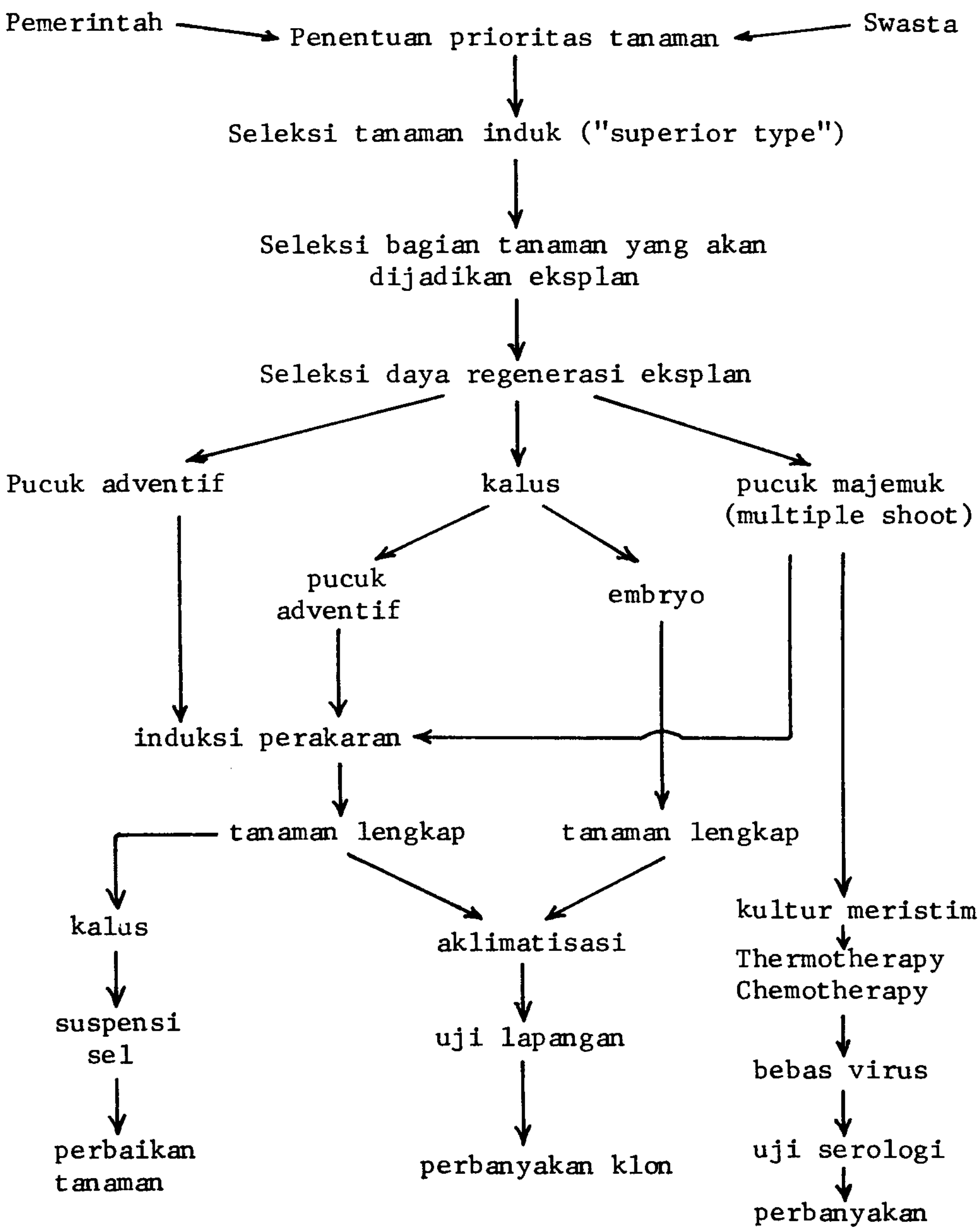
Gambar 9. Kentang yang berasal dari pucuk
Figure 9. Shoot culture of potato

telah dipelajari. Beberapa tanaman lain yang masih dalam penelitian adalah: nenas, pepaya, kubis, bawang putih, bawang bombay, coklat, *Asparagus*, dan jeruk.

Pemantapan metoda *in vitro* merupakan langkah yang sangat penting untuk mewujudkan tujuan praktis kegiatan kultur jaringan. Pada percobaan yang menggunakan unit sel/kalus dan protoplast, maka tahap pertama penelitian ditujukan pada studi diferensiasi jaringan. Berlainan dengan penelitian biologi, sel/kalus hasil seleksi dan hibridisasi tidak akan banyak artinya dalam agronomi, apabila tidak dapat diregenerasikan menjadi tanaman lengkap. Untuk perbanyakan klon, tipe regenerasi melalui pembentukan pucuk majemuk (multiple shoots) lebih ditekankan untuk mendapatkan tanaman "True to Type". Tahapan penelitian jurusan dapat diringkas dalam Gambar 10. Sedangkan rencana jangka panjang untuk perbaikan tanaman dapat dilihat pada Gambar 11.

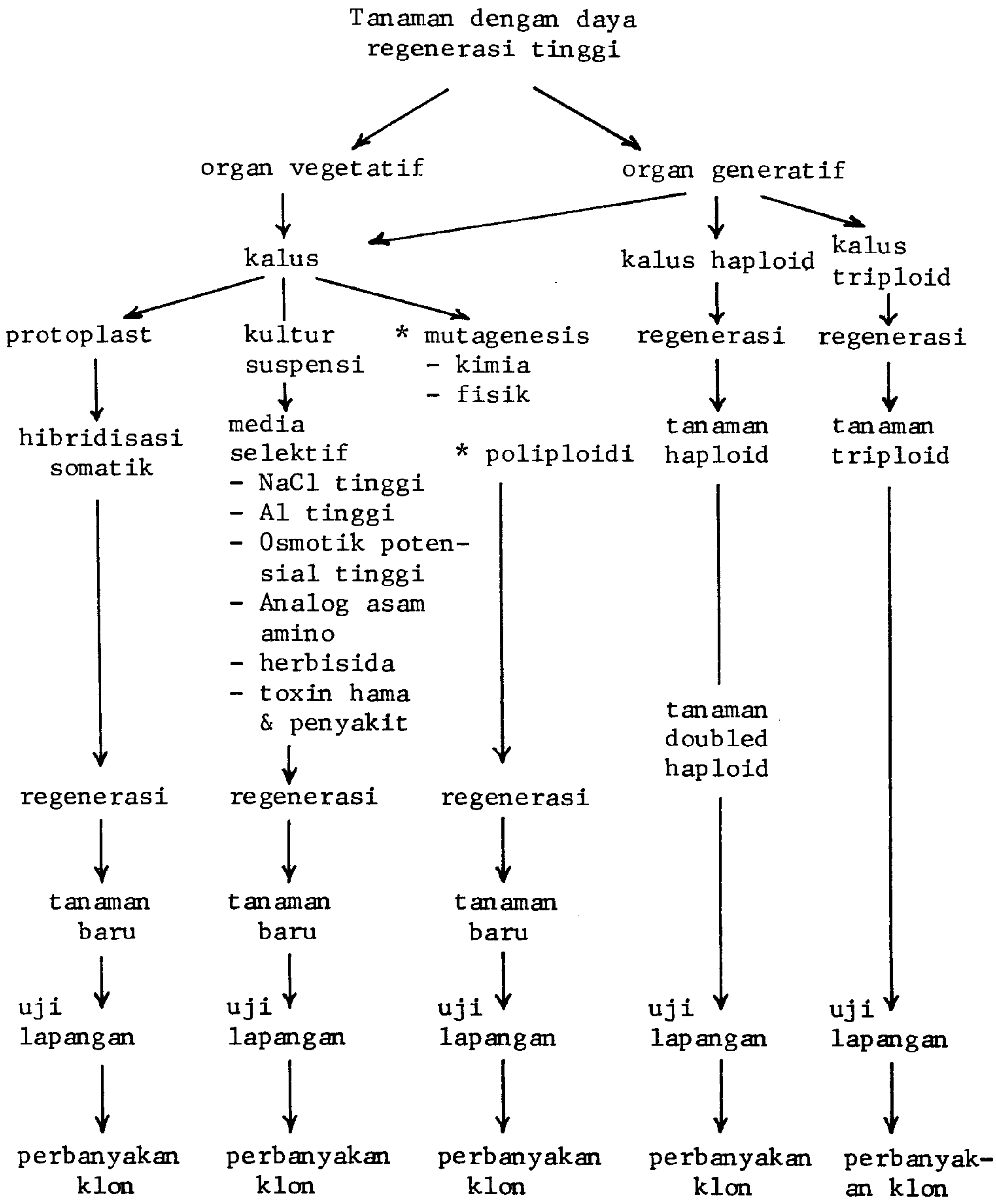
Arah aplikasi kegiatan jurusan adalah perbanyakan klon secara cepat untuk beberapa tanaman penting, produksi bibit bebas penyakit dan perbaikan tanaman menuju peningkatan produksi dan ketahanan terhadap lingkungan rawan. Sementara seleksi tanaman toleran terhadap NaCl tinggi dan usaha pembebasan virus dari tanaman jeruk masih dalam tahap penelitian, produksi bibit dari tanaman yang sudah mantap sistem kulturnya sudah merupakan suatu kenyataan. Gambar 13 menunjukkan contoh komoditi yang sudah siap disebarkan. Kegiatan ini menunjukkan potensi besar dalam menunjang program nasional dalam pengadaan bibit yang baik, murah dan dalam jumlah besar.

Secara umum masalah diferensiasi merupakan masalah biologi perkembangan (developmental biology) yang rumit dan kompleks. Menurut Carlson (1977) tidak ada satu prosedur *in vitro* yang berlaku setiap kali untuk setiap jenis tanaman. Dengan demikian penelitian kultur jaringan mengandung tantangan yang tidak menjemukan dan menuntut dedikasi penuh dari yang terlibat.



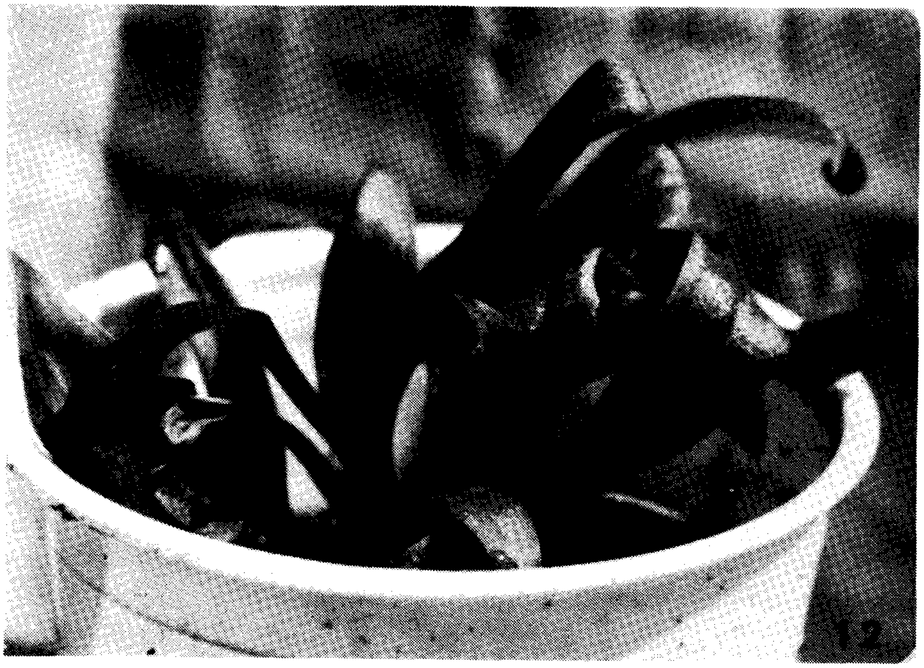
Gambar 10. Tahapan Penelitian Menuju Perbanyakan Klon dan Penyediaan Bibit

(Figure 10 Research sequence toward clonal propagation and stock preparation)



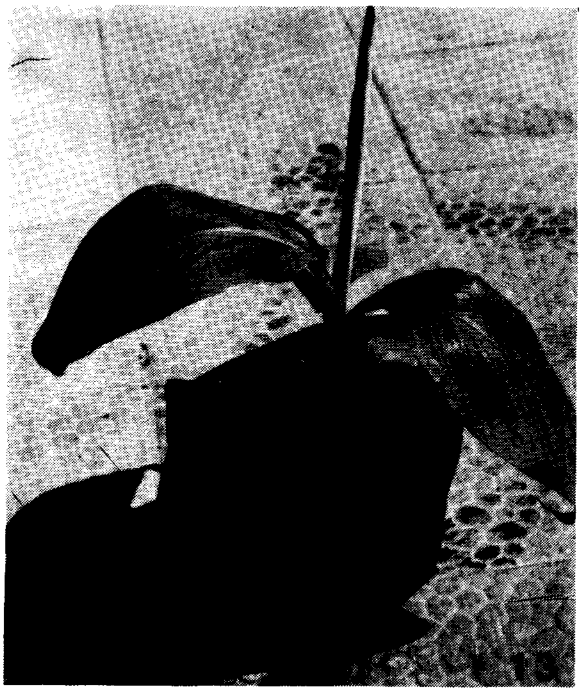
Gambar 11. Rencana Jangka Panjang Penelitian Perbaikan Tanaman (crop improvement)

(Figure 11 Long term crop improvement research plan)



Gambar 12. Bibit kencur yang akan diaklimatisasikan

Figure 12. *Kaemferia* stock prepared for acclimatization



Gb. 13. Bibit pisang tanduk dalam polybag, 1 bulan sesudah aklimatisasi

Fig. 13. Plantain plant in polybag, one month after acclimatization

Gb. 14. Bibit bunga *Petunia hibrida* sesudah aklimatisasi

Fig. 14. *Petunia hibrida* after acclimatization

Gambar 15. *Petunia hibrida* yang sedang berbunga yang berasal dari kultur jaringan

Figure 15. The flowering *Petunia hibrida* plant derived from tissue culture

Faktor pembatas bagi jurusan saat ini adalah kapasitas laboratorium yang tidak memadai, serta alat-alat dan bahan-bahan yang belum lengkap. Perkembangan penelitian selanjutnya dan peranannya dalam pembangunan pertanian sangat tergantung dari perencanaan dan pengelolaan yang tepat. Kerjasama yang serasi dengan lembaga lain akan besar manfaatnya mengingat masih banyak tanaman tropik penting lainnya yang belum ditangani dan banyak aspek yang belum didalami.

DAFTAR PUSTAKA

Anonymous. 1984. Work in particular laboratories. International Association for Plant Tissue Culture Newsletter no. 42: 12.

Boxus, Ph., M. Quoirin, and J. M. Laine. 1977. Large scale propagation of strawberry plants from tissue culture. In: Reinert and Bajaj (ed.). Applied and fundamental aspects of plant cell, tissue, and organ culture. p.130-142. Springer Verlag. New York.

Carlson, P. S. 1977. A cellular approach to agricultural genetics. Progress report prepared for United States Energy Research and Development Administration. Unpublished.

Heinz, D. J., M. Krishnamurthi, L. G. Nickel, and A. Maretzki. 1977. Cell tissue and organ culture in sugarcane improvement. In: Reinert and Bajaj (eds.). Applied and fundamental aspects of plant cell, tissue, and organ culture. p.3-17. Springer-Verlag. New York.

Misawa, M. 1977. Production of natural substances by plant cell cultures described in Japanese patent. In: Barz, Reinhard and Zenk (eds.). Plant tissue culture and its biotechnological application. p:17-26. Springer-Verlag. New York.

Morel, G. M. 1960. Producing virus-free Cymbidiums. Am. Orchid Soc. Bull. 29:495.

Mullin, R. H. and D. E. Schlegel. 1976. Cold storage maintenance of strawberry meristem plantlets. Hort Sci. 11:100-101.

Tabata, M. 1977. Recent advances in the production of medicinal substances by plant cell cultures. In: Barz, Reinhard, and Zenk (eds.). Plant tissue culture and its biotechnological application. P:3-16. Springer-Verlag. New York.

Turnbull, A., I. J. Galpin and H. A. Collin. 1980. Flavour production in tissue cultures of onion. In: Sala, Parisi, Cella, and Ciferri (eds.). Plant cell cultures: Results and perspectives. p.359-362. Elsevier/North Holland Biomedical Press. Amsterdam.

Withers, L. A. 1980. Tissue culture storage for genetic conservation. IBPGR Technical Report. Rome.

Yang, H. J. 1977. Tissue culture technique developed for asparagus propagation. Hort. Sci. 12:140.

Yeoman, M. M., Biedzybrodzka, K. Lindsey, and W. R. McLauchlan. 1980. The synthetic potential of cultured plant cells. In: Sala, Parisi, Cella, and Ciferra (eds.). Plant cell cultures: Results and perspectives p.327-344. Elsevier/ North Holland Biomedical Press. Amsterdam.