

KULTUR MARISTEM PADA TANAMAN TEMBAKAU

MARISTEM CULTURE IN TOBACCO¹⁾Sitti Fatimah Syahid dan Ika Mariska²⁾

ABSTRACT

Tobacco Mosaic Virus (TMV) is one of important diseases of tobacco which could reduce the yield and quality of the crop. Meristem culture could be applied on the production of virus free seedling. As a preliminary study, in this experiment explant was obtained from the apical meristem (including 2/3 leaf primordia) of healthy plant. Basal media used were MS + sucrose + vitamins (meso inositol 0.5 mg/l + thiamine HCl 0.1 mg/l, pyridoxin 0.5 mg/l and nicotinate acid 0.5 mg/l). The basal media were prepared in a liquid media enriched with BA of 1, 3 and 5 mg/l, and in a solid media enriched with kinetin of 0.5; 0.1; 1.5; 2.0 mg/l. Rooting was induced with IAA and IBA at the concentration of 1, 3 and 5 mg/l respectively. Results showed that rooting in solid media was better than in liquid one. The media treated with BA the meristem produced rosette + vitrification + callus. Kinetin 0.5 mg/l was the best to use, producing 4 shoots with 11.16 leaves per explant within 4 weeks. To induce the elongation of roots the best medium was that enriched with IAA 1 mg/l. The growth of shoots was more vigorous on the media enriched with IAA than that enriched with IBA.

RINGKASAN

TMV (Tobacco Mosaic Virus) merupakan virus penyebab utama turunnya produksi dan mutu tembakau. Meristem dapat digunakan untuk membebaskan tanaman dari virus. Pada percobaan tahap awal digunakan meristem/apiks sehat (apikal meristem + 2/3 daun primordia) sebagai eksplan. Media dasar yang dipakai MS + sukrosa 30 g/l + vitamin B (meso inositol 100 mg/l + thiamin HCl 0.1 mg/l, piridoksin 0.5 mg/l dan asam nikotinat 0.5 mg/l). Percobaan tahap I, perlakuan yang diuji macam media (padat dan cair) dan Ba

¹⁾ Disampaikan pada Seminar Bioteknologi Perkebunan dan Lokakarya Bopolimer Untuk Industri PAU Bioteknologi IPB, Bogor, 10 - 11 Desember 1991.

²⁾ Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri Bogor.

(1, 3 dan 5 mg/l). Pengujian dilakukan pula pada media padat yang diberi kinetin (0.5, 1.0, 1.5 dan 2.0 mg/l). Percobaan tahap II untuk perakaran perlakuan yang diberikan IAA dan IBA (1, 3 dan 5 mg/l). Hasil percobaan perakaran menunjukkan bahwa penggunaan media padat lebih baik dari pada media cair. Pemakaian BA memberikan pertumbuhan meristem menjadi "rosette" + vitrifikasi + kalus. Kinetin 0.5 mg/l paling baik digunakan dengan hasil rata-rata jumlah tunas 4.0 dan jumlah daun 11.16 (umur 4 minggu). Untuk induksi dan pemanjangan akar paling baik pada media yang diberi IAA 1 mg/l, demikian pula pertumbuhan tunasnya lebih subur terutama dibandingkan dengan IBA.

PENDAHULUAN

Tembakau merupakan salah satu komoditi pertanian yang besar sekali peranannya dalam kehidupan sosial ekonomi bangsa Indonesia (Hadisapoetro, 1979). Salah satu masalah dalam meningkatkan produksi dan mutu tembakau adalah serangan virus mosaik tembakau (TMV). Bahkan virus tersebut penyebab utama diantara semua virus yang menyerang tembakau (Wolf, 1957 dan Semangun, 1962).

berbagai upaya telah dilakukan untuk membebaskan tanaman dari virus umumnya (khususnya TMV) yaitu dengan termoterapi dan kemoterapi. Melalui kedua cara tersebut keberhasilannya baru terbatas pada beberapa jenis virus saja, tidak efektif 100% serta melalui termoterapi dapat menimbulkan strain-strain baru yang thermoresisten. Salah satu alternatif yang dapat dikembangkan untuk menghasilkan bibit yang sehat adalah melalui kultur jaringan. berbagai jaringan maupun organ yang dapat ditumbuhkan dari tanaman sakit diantaranya melalui kultur meristem, kultur kalus dan kultur nuselus. Dari ketiga cara tersebut maka kultur meristem merupakan teknik yang paling efektif digunakan untuk menghasilkan tanaman yang bebas virus (Mosella, 1979). Tanaman berasal dari meristem mempunyai sifat yang sama dengan induknya karena selain sifat diploid dari sel-sel meristem yang lebih seragam juga antara pembelahan sel

dan mitosisnya berjalan searah pada waktu yang bersamaan (Margara, 1987). Hal yang berbeda dengan kalus, peluang mendapatkan variasi genetik lebih tinggi dari pada kultur lainnya, sedangkan pemakaian nuselus akan menghasilkan tanaman yang mempunyai sifat juvenil dengan waktu yang lama bila tanaman sudah dewasa (Mosella, 1979).

Telah dihasilkan secara klonal tanaman bebas virus dari kultur mersitem sebanyak 55 spesies dari berbagai jenis tanaman (Margara, 1984). Keberhasilan kultur meristem menjadi tanaman sehat selain dipengaruhi oleh pelaksanaannya juga tergantung pada, jenis virusnya, ukuran jaringan, tanaman inang, lingkungan kultur serta komposisi media.

Menurut Murashige (1974) peluang mendapatkan plantlet bebas virus semakin tinggi bila ukuran meristem semakin kecil. Tetapi masalah yang dihadapi bila ukuran mersitem terlalu kecil akan sulit beregenerasi menjadi tanaman. Sebagai salah satu pemecahannya adalah menggunakan kombinasi perlakuan antara termoterapi dan kermoterapi dengan penggunaan eksplan yang berukuran lebih besar antara 0.4 - 1.2 mm (terdiri dari apikal mersitem dan 2/3 atau daun yang belum berdiferensiasi lebih lanjut). Untuk itu sebagai langkah awal yang penting adalah memacu proses morfogenesis meristem menjadi plantlet dengan memakai tanaman sehat, karena Margara (1987) mengatakan pula bahwa TMV lebih sukar dihilangkan dari pada virus lainnya seperti, PVY dan CMV. Pada kultur kalus yang disubkultur berulangkalipun penurunan TMV lebih sedikit dari virus lainnya.

Media cair pada umumnya digunakan untuk banyak tanaman pelargonium (Mamet, 1981).

Pemakaian garam mineral MS banyak digunakan untuk kultur mersitem diantaranya pada tanaman kentang (Morel, 1964) dan jeruk (Mariksa, 1985). Untuk lebih mengarahkan

proses diferensiasi mersitem dipakai sitokinn seperti BA atau kinetin dengan konsentrasi antara 1 sampai 10 mg/l. Mamet (1981) pada tanaman pelargonium memakai IBA dan IAA untuk memacu pembentukan akar dengan konsentrasi 1 sampai 5 mg/l.

Penelitian bertujuan untuk menumbuhkan mersitem menjadi tanaman dengan menggunakan 2 tahap percobaan. pada tahap pertama melihat pengaruh zat pengatur tumbuh sitokinn (BAP dan kinetin) dan media secara fisik terhadap pertumbuhan mersitem. Pada tahap kedua mencari jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh IAA atau IBA yang terbaik untuk perakaran.

BAHAN DAN METODA

Penelitian dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Kultur Jaringan, Puslitbangtri, Bogor.

Eksplan yang digunakan adalah apikal mersitem dengan 2 atau 3 daun primordia yang belum berdiferensiasi lebih lanjut. Jaringan mersitem tersebut berasal dari plantlet *Nicotiana tabacum* dalam botol yang telah tersedia di Puslitbangtri.

Medium dasar yang digunakan adalah medium MS (Murashige + Skoog) yang dibuat padat dengan penambahan agar swallow 9 g/l atau media cair tanpa penambahan agar. Pada media cair diberi kertas filter sebagai tempat penyangga meristem. Pada media dasar diberi sukrosa 30 g/l dan vitamin yang terdiri dari meso inositol 100 mg/l, thiamin 0.1 mg/l, piridoksin 0.5 mg/l dan asam nikotinat 0.5 mg/l.

Percobaan tahap pertama terdiri dari 2 macam percobaan yaitu untuk melihat respon pertumbuhan meristem dengan pemberian sitokinin (Ba dan kinetin), dan pada tahap kedua untuk mendapatkan perakaran yang lebih baik dengan menggunakan auksin (IAA dan IBA).

Pada tahap pertama perlakuan yang diberikan adalah jenis media secara fisik (padat dan cair) serta konsentrasi zat pengatur tumbuh BA (1, 3 dan 5 mg/l). Percobaan disusun secara faktorial dalam rancangan lingkungan acak lengkap dengan 6 ulangan.

Pada tahap kedua perlakuan yang dicobakan adalah jenis dan konsentrasi auksin : IAA dan IBA dengan konsentrasi masing-masing (1, 3 dan 5 mg/l). Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap dengan 5 ulangan.

Pengamatan dilakukan terhadap jumlah meristem yang tumbuh, jumlah daun muda, jumlah tunas, jumlah akar serta keadaan kultur secara visual.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil pengamatan didapatkan bahwa pada umur 2 minggu umumnya meristem yang ditumbuhkan pada media cair lebih kecil yaitu antara 66.67 - 77.78%, sedangkan pada media padat semua meristem tetap hidup 100%. Dua minggu setelah penanaman dapat diamati pula bahwa meristem mulai membentuk daun muda.

Pada Tabel 1 dapat dilihat bahwa pembentukan daun muda pada media padat lebih banyak (rata-rata 2.04) dari pada media cair (rata-rata 0.74). Dengan demikian pemakaian media padat untuk meristem tembakau lebih baik dari media cair. Hal yang berbeda dengan meristem tanaman lainnya seperti jeruk dan peach (Mosella, 1979 dan Mariska, 1985). Umumnya untuk tanaman berkayu dan beberapa tanaman herba lainnya digunakan media cair. Diduga meristem tembakau mempunyai kumpulan sel muda yang lebih responsif dibandingkan tanaman lainnya. Mosella (1979) mengatakan bahwa penyerapan senyawa organik dan anorganik pada media cair lebih cepat, sehingga disarankan konsentrasinya terutama zat pengatur tumbuh lebih rendah pada media cair. Dengan

demikian pada media padat setelah isolasi, meristem dapat beradaptasi lebih dahulu pada lingkungan yang baru sebelum zat pengatur tumbuh melakukan aktifitasnya.

Tabel 1. Pengaruh macam media secara fisik (padat dan cair) terhadap rata-rata jumlah daun muda, umur 2 minggu.

Macam media	Rata-rata jumlah daun muda
Padat	2.04 a
Cair	0.74 b
KK (%)	51

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 1%

Pada umur 4 minggu, meristem yang ditumbuhkan pada BA mulai membentuk tunas tapi akhirnya berbentuk "rosette" (pendek + gemuk), pada bagian dasarnya terbentuk kalus bahkan pada media cair terlihat adanya gejala vitrifikasi (Tabel 2).

Tabel 2. Keadaan biakan secara visual, umur 4 minggu

BA (mg/l)	Tunas secara visual
<u>Media padat</u>	
BA 1	rosette + kalus kecil
BA 3	rosette + kalus kecil
BA 5	rosette + kalus kecil
<u>Media cair</u>	
BA 1	rosette + kalus kecil + vitrifikasi
BA 2	rosette + kalus besar + vitrifikasi
BA 3	rosette + kalus besar + vitrifikasi

Gejala vitrifikasi + rosette lebih menonjol pada media cair, bahkan tunasnya yang berasal dari kalus sangat pendek, sehingga sukar dipisahkan untuk dipindahkan pada media baru. Untuk itu pemakaian BA diganti dengan kinetin yang mempunyai aktifitas lebih lemah yang hasilnya disajikan pada Tabel 3. Mersitem yang ditumbuhkan pada media dengan kinetin pertumbuhannya lebih baik, tidak menunjukkan adanya pembentukan kalus. Pada umur 4 minggu dari meristem mulai terbentuk tunas baru dan daun.

Tabel 3. Pengaruh kinetin terhadap rata-rata jumlah tunas dan jumlah daun, umur 4 minggu.

Kinetin (mg/l)	Rata-rata	
	Jumlah tunas	Jumlah daun
0.5	4.0 a	11.16 a
1.0	3.67 a	11.00 a
1.5	3.67 a	9.17 a
2.0	3.67 a	10.50 a

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 1%

Tabel 3 menunjukkan bahwa pada semua taraf konsentrasi kinetin memberikan hasil yang tidak berbeda nyata. Dengan demikian pemakaian kinetin konsentrasi rendah 0.5 mg/l lebih efisien dan lebih efektif untuk membentuk tunas dan daun muda. Hal yang sama dengan penelitian Gati dan Mariska (1989) pada tanaman mentha.

Tunas-tunas yang terbentuk pada media baru untuk perakaran dengan memakai IAA dan IBA. Pembentukan akar pada media baru tersebut dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Pengaruh jenis dan konsentrasi auksin IAA dan IBA terhadap rata-rata jumlah akar, umur 4 minggu

Auksin (mg/l)		Rata-rata jumlah akar
IAA	1	15.2 a
	3	16 a
	5	17 a
IBA	1	10 a
	3	13.2 a
	5	13.6 a

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 1%

Rataan jumlah akar tertinggi didapatkan pada IAA 1, 3 dan 5 mg/l tidak berbeda nyata dengan IBA 1 dan 3 mg/l. Walaupun secara kuantitatif antara perlakuan tidak berbeda nyata tetapi terdapat perbedaan secara visual antara akar yang dibentuk pada IAA dan IBA. Akar pada IBA terutama konsentrasi tinggi 5 mg/l lebih pendek dan gemuk, serta tunasnya pun menunjukkan gejala yang sama. Pada IAA terutama konsentrasi rendah proses pertumbuhannya lebih baik yang dicirikan dengan tunas yang tinggi-tinggi serta daunnya yang lebih lebar. Diduga tunas tembakau mempunyai auksin alami yang mencukupi bagi pertumbuhan akar. Dengan IBA sebagai auksin sintesa serta pemakaian konsentrasi tinggi dapat menghambat pertumbuhan akar. Kembali pada pernyataan Skoog dan Miller (1957) bahwa untuk induksi akar diperlukan konsentrasi auksin yang relatif tinggi, tetapi keadaan yang berbeda untuk pertumbuhannya selanjutnya konsentrasi tinggi tidak dianjurkan.

Dari hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar bagi pengembangan percobaan berikutnya dengan memakai tanaman yang sakit. Bila telah diperoleh plantlet yang

bebas virus (walaupun dengan kuantitas yang rendah) perbanyakannya dapat dilanjutkan baik secara konvensional maupun *in vitro*.

KESIMPULAN

Pada kultur meristem tembakau media padat lebih baik dari pada media cair.

Kinetin 0.5 mg/l lebih efektif dan lebih efisien dalam membentuk tunas dan daun muda.

Untuk perakaran IAA 3 mg/l memberikan hasil yang terbaik, demikian pula untuk pertumbuhan bagian atasnya yaitu tunas.

DAFTAR PUSTAKA

- Gati, E. dan I. Mariska. 1989. Perkembangan penelitian bioteknologi kultur jaringan tanaman penghasil minyak astiri. Edisi Khusus Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. Balittro V (2):19-33.
- Hadisapoetro, S. 1979. Naskah sambutan Menteri Pertanian pada sidang Komisi Teknis Perkebunan ke V Budidaya Tembakau di Solo.
- Mamet, H. 1981. Essais de regeneration *in vitro* de plantes entieres a partir de meristemes de deux varietes de *Pelargonium peltatum*. DEA, USTL, Montpellier.
- Mampouya, P.C. 1983. Analyse a l'aide de techniques de microgreffage *in vitro* des mecanismes de incompatibilite au greffage induite par un viriote de l'Exocortis chez les especes du genre Citrus. These Docteur de 3eme cycle en Agronomie, Mention Phytotechnie, USTL, Montpellier.
- Margara, J. 1984. Bases de la multiplication vegetative. Institut National De La Recherche Agronomie. Paris.

- Mariska, I. S. 1985. Contribution a' la culture *in vitro* des apex chez les agrumes: les isolements directs et les microgreffes *in vitro*. These Docteur 3eme cycle en Agronomie, Mention Phytotechnic. USTL. Montpellier.
- Mosella, L.C. 1978. Utilisation de l'apex caulinaire comme moyen d'elimination de deux types virioses chez le pecher (*Prunus persica* L.). These Docteur Ingenieur en Agronomie, Mention Phytotechnie. USTL, Montpellier.
- Murashige, T. 1974. Plant propagation through tissue culture. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 25:135-166.
- Semanggen, H. 1962. Penyakit mosaik pada tanaman tembakau. *Tembakau* 1(3):73-79.
- Skoog, F. and C.O. Miller. 1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured *in vitro*. *Symp. Soc. Exp. Biol.* 11:118-131.
- Wolf, F.A. 1957. *Tobacco Diseases and Decays*. Duke University Press, Durham. 130-139.