

INDUKSI EMBRIO SOMATIK MELON (*Cucumis melo* L.) PADA BERBAGAI MEDIA DAN ZAT PENGATUR TUMBUH
*Somatic Embryo Induction of Melon (*Cucumis melo* L.) on Some Media and Plant Growth Regulators*

Feni Sukmawati¹, Darda Efendi²

¹Mahasiswa Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, IPB

²Staf Pengajar Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, IPB

Abstract

*The experiment was conducted at Plant Tissue Culture Laboratory, Department Agronomy and Horticulture, Agriculture Faculty, Bogor Agriculture University from Mei to September 2009. The aim of this research were : (1) to study the effect of media (MS, B5 and WPM) and concentration of 2,4-Dichloropenoxyacetic acid (2,4-D) for induction of somatic embryogenesis in melon, (2) to study the effect of auxin and cytokinin concentration on somatic embryogenesis in melon (*Cucumis melo* L.). The experiment was arranged in Randomized Complete Block Design with three replications. The first experiment use immature seed as explants. The result showed that embryogenesis were not occurred in every combination of media (MS, B5 and WPM) and concentrations of 2,4-D (0, 0.5, 1.0 and 1.5 mg/L). Callus embryonic were induced at medium supplemented with low concentrations of 2,4-D. The second experiment use cotyledons of mature seed as explants. Cotyledons were culture on MS agar medium supplemented with several concentration of auxin (2,4-D, picloram and NAA) and BAP. The result showed that the somatic embryo were formed at 1.0 mg/L NAA and 2.0 mg/L NAA without BAP and combination with 0.1 mg/L BAP, 2.0 mg/L picloram+0.1 mg/L BAP, and 1 mg/L 2,4-D+0.1 mg/L BAP. NAA gave more efficient embryogenesis than the other auxins.*

Keywords : *embryogenesis, melon, auxin, cytokinin*

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Tanaman melon (*Cucumis melo* L.) termasuk dalam suku labu-labuan atau Cucurbitaceae. Tanaman Melon menghasilkan buah yang dapat dikonsumsi segar. Kebutuhan dan permintaan akan buah melon terus meningkat sejalan dengan perubahan gaya hidup sehat dan kesadaran masyarakat akan gizi yang seimbang. Menurut Badan Pusat Statistik (BPS) konsumsi buah melon pada tahun 2005 – 2008 mencapai 1.34 - 1.40 kg/kapita/tahun. Peningkatan konsumsi masyarakat harus diimbangi dengan ketersediaan buah melon yang berarti dilakukannya peningkatan produksi. Produksi buah melon meningkat pada kurun waktu 2004 – 2007, masing-masing 47.664, 58.440, 55.370, dan 59.814 ton (Deptan, 2008). Peningkatan produksi melon dari tahun ke tahun harus diimbangi dengan penyediaan benih melon baik kuantitas maupun kualitasnya agar produktivitas melon dapat optimal.

Perbanyakkan tanaman melon secara konvensional dikembangkan dengan menggunakan benih. Para pemulia tanaman saat ini telah berhasil melakukan hibridisasi melon sehingga diperoleh varietas tanaman melon yang memiliki mutu baik (melon hibrida). Melon hibrida dihasilkan dengan cara dilakukan persilangan antara tetua jantan dan betina yang memiliki karakter yang baik sehingga diperoleh benih melon yang memiliki sifat unggul. Namun, cara ini memerlukan waktu yang lama karena setiap akan memproduksi benih melon hibrida harus dilakukan penanaman tanaman induk terlebih dahulu. Selanjutnya dilakukan persilangan antara tetua jantan dan betina untuk menghasilkan benih hibrida. Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk membantu permasalahan tersebut adalah melalui teknik kultur jaringan (*in vitro*).

Perbanyakkan tanaman melalui teknik *in vitro* diharapkan dapat membantu penyediaan bibit melon dalam jumlah banyak, bebas patogen berbahaya, dan seragam untuk penanaman skala luas tanpa meninggalkan jaminan kualitasnya. Salah satu teknik yang paling banyak digunakan dalam perbanyakkan tanaman secara *in vitro* adalah embriogenesis. Menurut Gunawan (1992), embriogenesis merupakan proses terbentuknya embrio somatik yaitu embrio yang berasal bukan dari zigot, tetapi yang berasal dari sel biasa tubuh tanaman (sel somatik).

Embriogenesis somatik merupakan suatu proses di mana sel-sel somatik (baik haploid maupun diploid) berkembang membentuk tumbuhan baru melalui tahapan perkembangan embrio yang spesifik tanpa melalui fusi gamet (William dan Maheswara, 1986). Selanjutnya Wattimena (1992) menambahkan bahwa proses embriogenesis dapat berlangsung secara langsung atau tidak langsung. Proses embriogenesis secara langsung terjadi pembentukan proembrio atau embrioid pada potongan eksplan, sedangkan embriogenesis

secara tidak langsung diawali dengan pembentukan kalus terlebih dahulu. Regenerasi melalui embriogenesis somatik memberikan banyak keuntungan antara lain: waktu perbanyakkan lebih cepat, pencapaian hasil dalam mendukung program perbaikan tanaman lebih cepat, dan jumlah bibit yang dihasilkan tidak terbatas jumlahnya (Mariska, 1996). Faktor yang dapat mempengaruhi embriogenesis somatik yaitu jenis eksplan, sumber nitrogen, gula serta zat pengatur tumbuh (Purmaningsih, 2002).

Penelitian ini akan menginduksi embrio somatik melon dengan menggunakan berbagai media (MS, B5, dan WPM) dan ZPT (2,4-D, picloram, dan NAA) pada tingkat konsentrasi yang berbeda-beda.

Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh media kultur dan jenis Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) yang tepat terhadap pembentukan embrio somatik melon dalam kultur *in vitro*.

Hipotesis

Hipotesis percobaan I :

1. Terdapat jenis media yang optimum terhadap induksi embrio somatik melon.
2. Terdapat konsentrasi 2,4-D yang optimum terhadap induksi embrio somatik melon.
3. Terdapat interaksi antara jenis media dan konsentrasi 2,4-D terhadap induksi embrio somatik melon.

Hipotesis percobaan II :

1. Terdapat jenis dan konsentrasi auksin yang optimum terhadap induksi embrio somatik melon.
2. Terdapat konsentrasi BAP yang optimum terhadap induksi embrio somatik melon.
3. Terdapat interaksi antara auksin (2,4-D, picloram, dan NAA) dan BAP terhadap induksi embrio somatik melon.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan Waktu Pelaksanaan

Kegiatan penelitian ini dilaksanakan di laboratorium kultur jaringan tanaman Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Penelitian ini akan dilaksanakan selama 5 bulan yang terhitung dari bulan Mei sampai dengan bulan September 2009.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan sebagai eksplan dalam penelitian ini adalah biji melon muda dan biji melon tua H-7 koleksi Pusat Kajian Buah-buahan Tropika IPB, media tumbuh MS (murashige and Skoog), media B5, dan media WPM

(Woody Plant Medium), agar-agar sebagai bahan pematat, sukrosa (gula), zat pengatur tumbuh (2,4-D, picloram, NAA, dan BAP), sterilan (klorox, alkohol 70%, betadine, bakterisida (streptomycin sulfat), fungisida (mankozebe), deterjen, dan air steril).

Alat yang digunakan terdiri dari botol kultur, gelas ukur, gelas piala besar, cawan petri, dan corong plastik, kompor, autoclave, laminar airflow cabinet, pH meter, lampu spiritus, botol sprayer, rak kultur, plastik gulung dan karet gelang serta peralatan diseksi seperti sudip, pinset, pisau, dan scalpel.

Metode Penelitian

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan perlakuan dua faktor dengan menggunakan rancangan acak kelompok (RAK). Pada percobaan I faktor pertama adalah jenis media tumbuh dengan tiga taraf yaitu : Media MS, Media WPM, dan Media B5. Faktor kedua adalah konsentrasi zat pengatur tumbuh auksin jenis 2,4-D, dengan empat taraf yaitu: 0 ; 0.5 ; 1.0 dan 1.5 mg/L. Terdapat 12 kombinasi perlakuan dan setiap perlakuan diulang 3 kali berdasarkan hari penanaman sehingga diperoleh 36 satuan percobaan. Setiap satuan percobaan terdiri dari 5 botol dan 1 botol terdiri dari 4 eksplan.

Pada percobaan II faktor pertama adalah jenis dan konsentrasi auksin dengan tujuh taraf yaitu : 0 mg/L (tanpa auksin), 1.0 mg/L 2,4-D, 2.0 mg/L 2,4-D, 1.0 mg/L picloram, 2.0 mg/L picloram, 1.0 mg/L NAA dan 2.0 mg/L NAA. Faktor kedua adalah konsentrasi BAP dengan dua taraf yaitu: 0 dan 0.1 mg/L. Terdapat 14 kombinasi perlakuan dan setiap perlakuan diulang 3 kali berdasarkan hari penanaman sehingga diperoleh 42 satuan percobaan. Setiap satuan percobaan terdiri dari 5 botol dan 1 botol terdiri dari 4 eksplan.

Uji statistik yang digunakan yaitu analisis sidik ragam.

Model rancangan yang digunakan adalah :

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \gamma_k + \epsilon_{ijk}$$

i = perlakuan jenis media dan atau jenis & taraf konsentrasi auksin

j = perlakuan taraf konsentrasi 2,4-D dan atau taraf konsentrasi BAP

k = 1, 2, 3 (ulangan)

Y_{ijk} = respon perlakuan

μ = pengaruh rata-rata umum

α_i = pengaruh perlakuan jenis media dan atau jenis & taraf konsentrasi auksin pada taraf ke-i

β_j = pengaruh perlakuan konsentrasi 2,4-D dan atau konsentrasi BAP pada taraf ke-j

(αβ)_{ij} = pengaruh interaksi antara dua faktor perlakuan

γ_k = pengaruh ulangan ke-k

ε_{ijk} = pengaruh galat percobaan

Pada percobaan I : Pada Percobaan II :

i = 1,2,3

i = 1,2,3,...,7

j = 1,2,3,4

j = 1,2

k = 1,2,3

k = 1,2,3

Data hasil pengamatan dianalisis dengan menggunakan uji F. Apabila terdapat pengaruh yang nyata, maka akan dilanjutkan dengan uji lanjut DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) pada taraf 5%. Pengolahan data dilakukan dengan perangkat lunak *Statistical Analysis System* (SAS).

Pelaksanaan Percobaan

Percobaan I

Bahan tanam yang digunakan dalam penelitian ini yaitu biji melon muda yang berasal dari melon muda hibrida H-7 koleksi Pusat Kajian Buah-buahan Tropika IPB. Biji berasal dari buah muda berumur 15 hari setelah penyerbukan. Buah melon muda dicuci bersih dengan disikat menggunakan deterjen dibawah air mengalir. Buah melon yang sudah bersih kemudian direndam dalam larutan fungisida (mankozebe) dan bakterisida (streptomycin sulfat) dengan konsentrasi masing-masing 2 gr/L selama 1 jam. Buah dibilas dengan air steril di dalam laminar lalu direndam dalam larutan klorox 25% selama 25 menit. Buah dibilas kembali dengan air steril lalu dibelah secara melintang. Biji melon dipisahkan dari daging buah kemudian dibersihkan satu-persatu dari lendir-lendir yang menempel. Biji yang sudah bersih direndam dalam larutan klorox 5% selama 20 menit. Lalu

dibilas dengan air steril sebanyak dua kali. Biji yang telah steril ditanam pada media kultur sebanyak empat biji per botol. Media mengandung 30 gr/L gula dan 8 gr/L. Derajat keasaman (pH) media diatur sebesar 5.8 – 6 lalu media di autoclave pada suhu 121°C selama 30 menit pada tekanan 1.1 kg/cm². Biji yang telah ditanam disimpan pada ruang gelap dengan suhu 20°C. Pengamatan dilakukan setiap minggu.

Percobaan II

Bahan tanam yang digunakan dalam penelitian ini yaitu biji melon tua yang berasal dari melon hibrida H-7 koleksi Pusat Kajian Buah-buahan Tropika IPB. Biji melon dipisahkan dari kulitnya sehingga diperoleh kotiledon. Kotiledon kemudian direndam dalam larutan fungisida (mankozebe) dan bakterisida (streptomycin sulfat) dengan konsentrasi masing-masing 2 gr/L selama 1 jam. Kotiledon lalu dibilas dengan air steril kemudian direndam dalam larutan klorox 10% selama 10 menit lalu direndam kembali dalam larutan klorox 5% selama 5 menit kemudian dibilas dengan air steril sebanyak 2 kali. Banyaknya biji yang direndam adalah 100 biji per 100 ml larutan klorox. Kotiledon yang telah steril ditanam pada media kultur sebanyak empat buah per botol. Sebelum ditanam kotiledon terlebih dahulu dipotong pada bagian aksis. Media mengandung 30 gr/L gula dan 8 gr/L. Derajat keasaman (pH) media diatur sebesar 5.8 – 6 lalu media di autoclave pada suhu 121°C selama 30 menit pada tekanan 1.1 kg/cm². Biji yang telah ditanam disimpan pada ruang gelap dengan suhu 20°C. Pengamatan dilakukan setiap tiga hari sekali.

Pengamatan

Metode pengamatan yang dilakukan yaitu pengamatan langsung terhadap kultur secara makroskopis. Faktor-faktor yang diamati dalam penelitian ini meliputi beberapa peubah diantaranya ;

1. Persentase kultur yang kontaminasi
2. Persentase kultur yang membentuk kalus
3. Persentase kultur yang membentuk embrio somatik
4. Waktu muncul kalus dan embrio somatik
5. Stuktur dan warna kalus
6. Persentase kultur berkecambah dan berakar

Pengamatan dilakukan terhadap setiap eksplan. Eksplan diamati satu per satu kemudian dicatat sesuai dengan respon yang terjadi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kondisi Umum

Bahan tanam pada percobaan pertama dalam penelitian ini menggunakan biji melon yang berasal dari buah melon muda. Penanaman biji melon muda dilakukan pada tanggal 28, 29 dan 30 April 2009. Biji yang sudah ditanam disimpan dalam ruang gelap. Respon yang diberikan eksplan muncul pada minggu kedua setelah tanam yaitu biji berkecambah. Perkembangan yang terjadi selanjutnya setelah biji berkecambah yaitu mulai terbentuknya kalus pada bagian pangkal kotiledon pada minggu kelima setelah tanam. Biji berkecambah diduga karena biji muda hampir membentuk biji sempurna dan ditanam secara utuh. Biji melon yang tidak berkecambah menunjukkan respon yang berbeda. Kulit biji membelah kemudian akan terbentuk kalus pada bagian kotiledon biji yang terkena media. Kalus yang terbentuk strukturnya remah, berwarna bening kekuningan dan ditumbuhi bulu-bulu putih pada permukaan kalus. Pada tahap awal, kalus yang terbentuk mengalami pembesaran. Pembesaran kalus terhenti ditandai dengan perubahan warna kalus dari bening kekuningan menjadi coklat. Perubahan warna kalus ini juga sebagai indikator bahwa perkembangan eksplan sudah berhenti.

Bahan tanam yang digunakan pada percobaan kedua yaitu kotiledon yang berasal dari biji melon tua. Penanaman dilakukan pada tanggal 25, 26 dan 27 Juni 2009. Eksplan yang sudah ditanam disimpan dalam ruang gelap. Respon awal yang muncul yaitu kotiledon membelah menjadi dua dan mengalami pembesaran. Pembesaran kotiledon ini terhenti pada hari kedua sampai keenam setelah tanam. Kotiledon yang membesar mengalami perkembangan yang bervariasi. Perkembangan eksplan yang bervariasi bergantung pada perlakuan yang diberikan pada percobaan.

Persentase Biji Berkecambah

Hasil uji F memperlihatkan bahwa perlakuan jenis media dan taraf konsentrasi 2,4-D berpengaruh nyata terhadap rata-rata persentase biji berkecambah. Tidak terdapat interaksi antara perlakuan jenis media dan konsentrasi 2,4-D terhadap persentase biji berkecambah.

Tabel 1. Rekapitulasi Sidik Ragam Persentase Biji Berkecambah

Minggu Pengamatan	Media	Konsentrasi 2,4-D	Interaksi	KK (%)
2 MST ^t	tn	*	tn	46.23
3 MST ^t	tn	**	tn	32.27
4 MST	tn	*	tn	25.90
5 MST	*	*	tn	25.18
6 MST	*	tn	tn	27.08
7 MST	**	*	tn	17.51
8 MST	**	*	tn	17.53
9 MST	**	*	tn	17.53
10 MST	**	*	tn	17.53

Ket : tn tidak berbeda nyata pada taraf 5%
 *, ** berbeda nyata pada taraf 5% dan 1%
^t data ditransform dengan rumus $\sqrt{x + 0.5}$

Pada Tabel 2 dapat dilihat bahwa jenis media memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap rata-rata persentase biji berkecambah pada saat 7 MST. Perlakuan media B5 memberikan hasil yang berbeda nyata dengan perlakuan media WPM dan MS terhadap rata-rata persentase biji berkecambah. Perlakuan media MS dan WPM memberikan hasil tidak berbeda nyata berdasarkan uji lanjut jarak berganda Duncan (DMRT) pada taraf 5%.

Tabel 2. Pengaruh jenis media terhadap rata-rata persentase biji berkecambah

Jenis Media	Waktu Pengamatan Minggu Setelah Tanam (MST)					
	5 MST	6 MST	7 MST	8 MST	9 MST	10 MST
MS	35.7 b	45.1 b	51.1 b	51.1 b	51.1 b	51.1 b
B5	44.4 a	60.7 a	79.8 a	79.8 a	79.8 a	79.8 a
WPM	34.7 b	47.6 b	59.1 b	59.6 b	59.6 b	59.6 b

Ket : Tanda huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji jarak berganda Duncan (DMRT) 5 %

Berdasarkan hasil yang diperoleh, disajikan pada Tabel 2, dapat dikatakan bahwa media B5 kurang tepat bila digunakan untuk menginduksi embrio somatik karena memacu perkecambahan biji. Biji berkecambah tidak diharapkan dalam induksi embrio somatik. Jika biji berkecambah maka akan menghambat terbentuknya embrio.

Diantara media MS, B5 dan WPM kandungan KNO_3^- paling tinggi terdapat pada media B5. Hal ini diduga mempengaruhi persentase perkecambahan biji. Pemberian unsur nitrogen dalam bentuk KNO_3^- cenderung mempengaruhi pertumbuhan eksplan. Nitrogen merupakan faktor utama dalam memacu morfogenesis secara *in vitro* (Purnamaningsih, 2002).

Tabel 3. Pengaruh taraf konsentrasi 2,4-D terhadap rata-rata persentase biji berkecambah

Taraf 2,4-D	Waktu Pengamatan Minggu Setelah Tanam				
	2 MST ^t	4 MST	7 MST	8 MST	10 MST
0 mg/L	3.5a	40.9a	68.7a	68.7a	68.7a
0.5 mg/L	3.0ab	36.6a	67.0a	67.0a	67.0a
1.0 mg/L	2.3ab	36.3a	63.9ab	64.4ab	64.4ab
1.5 mg/L	1.9b	26.6b	53.8b	53.8b	53.8b

Ket : Tanda huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji jarak berganda Duncan (DMRT) 5 %

Berdasarkan hasil analisis ragam yang disajikan dalam Tabel 3, konsentrasi 2,4-D sebesar 1.5 mg/L dapat menekan perkecambahan dibandingkan taraf konsentrasi 2,4-D sebesar 0, 0.5 dan 1.0 mg/L. Hal ini berarti dosis 2,4-D yang tinggi mampu

menekan perkecambahan yang dapat menghambat terjadinya induksi embrio somatik.

Berdasarkan hasil analisis ragam yang disajikan pada Tabel 3, untuk menghindari terjadinya perkecambahan pada biji dan untuk merangsang pembentukan kalus perlu ditambahkan auksin dengan konsentrasi yang tinggi kedalam media kultur. Menurut Gunawan (1992), penambahan auksin dan sitokinin eksogen mengubah level zat pengatur tumbuh endogen, yang kemudian merupakan *trigerring* faktor untuk proses tumbuh dan morfogenesis.

Persentase Biji Berkalus

Berdasarkan hasil uji F yang disajikan pada Tabel 4, perlakuan jenis media dan taraf konsentrasi 2,4-D berpengaruh nyata terhadap persentase biji berkalus. Tidak ada interaksi antara perlakuan jenis media dan konsentrasi 2,4-D terhadap persentase biji berkalus.

Tabel 4. Rekapitulasi sidik ragam persentase biji berkalus

Minggu Pengamatan	Media	Konsentrasi 2,4-D	Interaksi	KK (%)
4 MST ^t	tn	tn	tn	86.04
5 MST ^t	*	tn	tn	82.62
6 MST ^t	tn	tn	tn	49.84
7 MST	*	**	tn	42.01
8 MST	*	**	tn	38.11
9 MST	*	**	tn	38.62
10 MST	*	**	tn	38.62

Ket : tn tidak berbeda nyata pada taraf 5%
 *, ** berbeda nyata pada taraf 5% dan 1%
^t data ditransform dengan rumus $\sqrt{x + 0.5}$

Berdasarkan hasil analisis sidik ragam yang disajikan dalam Tabel 5 dapat dilihat bahwa media B5 dan MS memberikan hasil tidak berbeda nyata terhadap rata-rata persentase biji berkalus, masing-masing sebesar 40.1% dan 30.2%. Perlakuan jenis media B5 berbeda nyata dengan perlakuan media WPM yang memberikan persentase biji berkalus sebesar 24.8%.

Tabel 5. Pengaruh jenis media terhadap rata-rata persentase biji berkalus

Jenis Media	Waktu Pengamatan Minggu Setelah Tanam (MST)			
	7 MST	8 MST	9 MST	10 MST
MS	27.3 b	28.9 b	30.2 ab	30.2 ab
B5	38.4 a	40.1 a	40.1 a	40.1 a
WPM	23.5 b	24.8 b	24.8 b	24.8 b

Ket : Tanda huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji jarak berganda Duncan (DMRT) 5 %

Berdasarkan hasil yang diperoleh (Tabel 5), dapat dikatakan bahwa media MS dan B5 dapat digunakan untuk menginduksi kalus embriogenik. Bila dihubungkan dengan hasil yang diperoleh pada Tabel 2, maka media MS merupakan media yang baik untuk menginduksi kalus embriogenik dibandingkan media B5.

Tabel 6. Pengaruh taraf konsentrasi 2,4-D terhadap rata-rata persentase biji berkalus

Taraf 2,4-D	Waktu Pengamatan Minggu Setelah Tanam (MST)			
	7 MST	8 MST	9 MST	10 MST
0 mg/L	12.9 b	14.5 b	14.5 b	14.5 b
0.5 mg/L	32.6 a	33.6 a	33.6 a	33.6 a
1.0 mg/L	43.1 a	44.3 a	44.3 a	44.3 a
1.5 mg/L	30.4 a	32.6 a	34.3 a	34.3 a

Ket : Tanda huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji jarak berganda Duncan (DMRT) 5 %

Berdasarkan hasil analisis sidik ragam yang disajikan dalam Tabel 6, konsentrasi 2,4-D sebesar 0.5 mg/L, 1.0 mg/L, dan 1.5 mg/L, memberikan hasil tidak berbeda nyata terhadap rata-rata persentase biji berkalus, masing-masing sebesar 33.6%,

44.3%, dan 34.3%. Ketiga taraf konsentrasi 2,4-D tersebut memberikan hasil yang berbeda nyata dengan taraf konsentrasi 0 mg/L 2,4-D. Hal ini berarti penambahan auksin 2,4-D dengan konsentrasi rendah mampu untuk menginduksi kalus.

Auksin berfungsi untuk pertumbuhan kalus, suspensi sel dan pertumbuhan akar. Jenis auksin 2,4-D merupakan jenis auksin yang banyak digunakan untuk induksi kalus. Selain itu sering digunakan untuk mendorong pembentukan embrio somatik (Wattimena *et al.*, 1992). Pemberian 2,4-D pada dosis rendah mampu untuk menginduksi kalus sehingga penggunaan dosis yang tinggi tidak diperlukan untuk menginduksi kalus.

Tabei *et al.* (1991) melaporkan bahwa pemberian 2,4-D secara tunggal pada konsentrasi 1.0 sampai 2.0 mg/L dapat menginduksi embrio somatik pada tanaman melon. Namun, pada penelitian ini embrio tidak terbentuk. Sebagian besar eksplan hanya membentuk kalus dan kalus tersebut tidak mengalami perkembangan lagi. Hanya terdapat satu kalus yang mengalami organogenesis yaitu pada perlakuan media MS ditambahkan 1.0 mg/L 2,4-D. Hal ini diduga karena eksplan yang dikulturkan memiliki sel atau jaringan yang mampu melakukan morfogenesis atau sel tersebut kompeten.

Percobaan II Kalus Embriogenik

Perlakuan taraf konsentrasi auksin (2,4-D, Picloram dan NAA) dengan taraf konsentrasi sitokinin (BAP) memberikan pengaruh yang nyata terhadap persentase eksplan yang menghasilkan kalus embriogenik. Hasil uji F yang disajikan pada Tabel 7 menunjukkan bahwa terdapat interaksi antara perlakuan taraf konsentrasi auksin dengan taraf konsentrasi sitokinin terhadap pembentukan kalus embriogenik. Tabel 7 menunjukkan bahwa interaksi mulai terjadi sejak 18 HST (hari setelah tanam) sampai dengan pada hari terakhir pengamatan yaitu 45 HST.

Tabel 7. Rekapitulasi sidik ragam persentase eksplan yang menghasilkan kalus embriogenik

Hari Pengamatan	Auksin	BAP	Interaksi	KK (%)
9 HST ^t	tn	tn	tn	50.93
12 HST	**	tn	**	59.75
15 HST	**	tn	tn	48.71
18 HST	**	**	*	44.11
21 HST	**	**	*	38.97
24 HST	**	**	**	32.86
27 HST	**	**	**	28.25
30 HST	**	**	**	22.00
33 HST	**	**	**	23.49
36 HST	**	**	**	24.02
39 HST	**	**	**	16.34
42 HST	**	**	**	15.87
45 HST	**	**	**	14.12

Keterangan : tn tidak berbeda nyata pada taraf 5%
*, ** berbeda nyata pada taraf 5% dan 1%
^t data ditransform dengan rumus $\sqrt{x + 0.5}$

Eksplan yang ditanam pada media kultur yang tidak ditambahkan auksin tidak menghasilkan kalus embriogenik. Perlakuan media kultur yang ditambahkan auksin tunggal maupun yang dikombinasikan dengan BAP mampu menghasilkan kalus embriogenik dengan persentase bervariasi bergantung dari jenis auksin. Berdasarkan analisis sidik ragam yang disajikan pada Tabel 8, hasil pembentukan kalus embriogenik terbanyak ditunjukkan pada perlakuan 2.0 mg/L NAA + 0.1 mg/L BAP sebesar 73.3%, namun hasil ini tidak berbeda nyata dengan perlakuan 2.0 mg/L NAA tanpa BAP yang memberikan hasil sebesar 66.6%.

Menurut Wattimena (1992) pada umumnya untuk menginduksi kalus embriogenik memerlukan auksin dan sitokinin. Perbandingan kedua zat pengatur tumbuh tersebut (nisbah auksin dan sitokinin) yaitu konsentrasi auksin dalam media harus lebih tinggi dibandingkan konsentrasi sitokinin. Pada penelitian ini kalus embriogenik dapat dihasilkan dengan pemberian auksin secara tunggal maupun dikombinasikan dengan sitokinin.

Tabel 8. Interaksi taraf auksin (2,4-D, picloram dan NAA) dengan BAP terhadap persentase eksplan yang menghasilkan kalus embriogenik

Perlakuan	Waktu Pengamatan HST (Hari Setelah Tanam)				
	21 HST	27 HST	33 HST	39 HST	45 HST
A0B0	0d	0d	0e	0f	0f
A0B1	0d	0d	0e	0f	0f
A1B0	26.6ab	30ab	33.3abc	43.3bc	45bc
A1B1	28.3ab	31.6ab	35abc	38.3cd	40cd
A2B0	21.6abc	25b	28.3c	31.6d	33.3d
A2B1	30a	31.6ab	30bc	33.3d	33.3d
A3B0	0d	0d	1.6e	1.6f	1.6f
A3B1	10cd	11.6c	13.3d	13.3e	13.3e
A4B0	0d	0d	5de	8.3ef	16.6e
A4B1	28.3ab	31.6ab	35abc	36.6cd	41.6cd
A5B0	26.6ab	30ab	35abc	43.3bc	45c
A5B1	30a	36.6a	40ab	48.3b	55b
A6B0	16.6bc	21.6b	43.3a	58.3a	66.6a
A6B1	16.6bc	31.6ab	43.3a	61.6a	73.3a

Ket : Tanda huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji jarak berganda Duncan (DMRT) 5 %. A0 (tanpa auksin), A1-A2 (1, 2 mg/L 2,4-D), A3-A4 (1, 2 mg/L picloram), A5-A6 (1, 2 mg/L NAA), B0 (tanpa BAP), B1 (0.1 mg/L BAP).

Jumlah Eksplan yang Menghasilkan Embrio dan Jumlah Embrio

Hasil uji F menunjukkan bahwa perlakuan jenis dan taraf konsentrasi auksin berpengaruh nyata terhadap jumlah eksplan yang menghasilkan embrio dan jumlah embrio per eksplan. Perlakuan kombinasi jenis dan taraf konsentrasi auksin dengan taraf konsentrasi BAP memberikan interaksi terhadap jumlah eksplan yang menghasilkan embrio.

Tabel 9. Rekapitulasi sidik ragam jumlah embrio per eksplan dan jumlah eksplan yang menghasilkan embrio pada 42 HST.

Peubah	Auksin	BAP	Interaksi	KK (%)
Jumlah Eksplan yang menghasilkan embrio ^t	**	tn	**	2.18
Jumlah Embrio per Eksplan ^t	**	tn	tn	22.79

Ket : tn tidak berbeda nyata pada taraf 5%
** berbeda nyata pada taraf 1%
^t data ditransform dengan rumus $\sqrt{x + 0.5}$

Perlakuan kombinasi jenis dan konsentrasi auksin dengan konsentrasi BAP memberikan interaksi terhadap jumlah eksplan yang menghasilkan kalus embriogenik. Berdasarkan hasil analisis sidik ragam yang disajikan pada Tabel 10, eksplan dapat menghasilkan embrio bila ditambahkan auksin ke dalam media kultur. Penggunaan jenis auksin NAA secara tunggal dengan konsentrasi 1.0 mg/L dan 2.0 mg/L memberikan respon tertinggi terhadap jumlah eksplan yang menghasilkan embrio dibandingkan dengan penggunaan jenis auksin 2,4-D dan picloram. Eksplan yang menghasilkan embrio pada perlakuan 1.0 mg/L dan 2.0 mg/L NAA tanpa BAP yaitu sebesar 0.10 eksplan. Perlakuan 1.0 mg/L 2,4-D + 0.1 g/L BAP menghasilkan jumlah yang terkecil yaitu 0.01 eksplan

Tabel 10. Interaksi taraf konsentrasi auksin dan BAP terhadap jumlah eksplan yang menghasilkan embrio pada 42 HST

Auksin	BAP	
	0 mg/L	0.1 mg/L
Tanpa auksin	0.70 d (0.0)	0.70 d (0.0)
2,4-D 1.0 mg/L	0.70 d (0.0)	0.71 cd (0.01)
2,4-D 2.0 mg/L	0.70 d (0.0)	0.70 d (0.0)
Picloram 1.0 mg/L	0.70 d (0.0)	0.70 d (0.0)
Picloram 2.0 mg/L	0.70 d (0.0)	0.74 bc (0.05)
NAA 1.0 mg/L	0.77 a (0.1)	0.75 ab (0.06)
NAA 2.0 mg/L	0.77 a (0.1)	0.73 ab (0.03)

Ket : tanda huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji lanjut DMRT 5%.

Zat pengatur tumbuh auksin maupun sitokinin sangat diperlukan dalam embriogenesis. Perbandingan nisbah auksin dengan sitokinin yaitu konsentrasi auksin dalam media harus lebih tinggi dibandingkan konsentrasi sitokinin (Wattimena, 1992). Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Oridate *et al.* (1986) yang melaporkan bahwa 1.0 mg/L 2,4-D + 0.1 mg/L BAP berhasil menginduksi embrio somatik melon dari biji tua. Dan hal yang serupa ditunjukkan oleh hasil penelitian Kageyama *et al.* (1991) yang melaporkan bahwa penggunaan 1.0 mg/L 2,4-D + 1.0 mg/L NAA + 0.1 mg/L BAP mampu menginduksi embrio somatik dari kotiledon biji tua.

Tabel 11. Pengaruh jenis dan konsentrasi auksin terhadap jumlah embrio per eksplan

Jenis dan taraf Auksin	Jumlah embrio per Eksplan
A0 (tanpa auksin)	0.70 d (0.0)
A1 (2,4-D 1 mg/L)	0.79 cd (0.16)
A2 (2,4-D 2 mg/L)	0.70 d (0.0)
A3 (Picloram 1 mg/L)	0.70 d (0.0)
A4 (Picloram 2 mg/L)	1.02 bc (0.6)
A5 (NAA 1 mg/L)	1.25 ab (1.13)
A6 (NAA 2 mg/L)	1.35 a (1.47)

Ket : Tanda huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji jarak berganda Duncan (DMRT) 5%

Perlakuan jenis auksin (2,4-D, picloram dan NAA) serta taraf konsentrasi auksin berpengaruh nyata terhadap pembentukan embrio somatik. Hal ini ditunjukkan oleh hasil analisis sidik ragam yang disajikan pada Tabel 11. Embrio somatik dapat diinduksi pada perlakuan 1.0 mg/L 2,4-D + 0.1 mg/L BAP, 2.0 mg/L picloram tanpa BAP, 1.0 mg/L dan 2.0 mg/L NAA secara tunggal maupun dikombinasikan dengan 0.1 mg/L BAP. Penggunaan NAA dengan konsentrasi 2.0 mg/L memberikan respon tertinggi terhadap jumlah embrio per eksplan dibandingkan penggunaan auksin 2,4-D dan picloram. Jumlah embrio per eksplan yang tertinggi terbentuk pada perlakuan 2 mg/L NAA tanpa BAP yaitu sebesar 1.47 embrio. Jumlah embrio terkecil dihasilkan oleh perlakuan 1 mg/L 2,4-D + 0.1 mg/L BAP yaitu hanya sebesar 0.16 embrio.

Persentase Kotiledon Berakar

Perlakuan taraf konsentrasi auksin (2,4-D, Picloram dan NAA) dengan taraf konsentrasi sitokinin (BAP) memberikan pengaruh yang nyata terhadap persentase pembentukan kotiledon berakar. Hasil uji F yang disajikan pada Tabel 12 menunjukkan bahwa terdapat interaksi antara perlakuan taraf konsentrasi auksin dengan taraf konsentrasi sitokinin terhadap persentase pembentukan kotiledon yang berakar.

Tabel 12. Rekapitulasi sidik ragam persentase kotiledon berakar

Hari Pengamatan	Auksin	BAP	Interaksi	KK (%)
3 HST ^t	**	**	**	57.97
6 HST ^t	**	tn	tn	32.51
9 HST	**	**	**	31.24
12 HST	**	**	**	22.69
15 HST	**	**	**	17.80
18 HST	**	**	**	20.61
21 HST	**	**	**	25.55
24 HST	**	**	**	18.74
27 HST	**	**	**	17.60
30 HST	**	**	**	19.54
33 HST	**	**	**	17.72
36 HST	**	**	**	17.52
39 HST	**	**	**	17.11
42 HST	**	**	**	17.20
45 HST	**	**	**	17.11

Ket : tn tidak berbeda nyata pada taraf 5%
** berbeda sangat nyata pada taraf 1%

Berdasarkan hasil pengamatan, respon kotiledon yang berakar terdapat pada perlakuan tanpa auksin dan perlakuan penggunaan jenis auksin picloram pada taraf konsentrasi 1.0 dan 2.0 mg/L baik secara tunggal maupun dikombinasikan dengan 0.1 mg/L BAP. Pada kedua perlakuan tersebut terdapat perbedaan respon. Pada perlakuan tanpa penambahan auksin, akar tumbuh dari bagian aksis biji tanpa pembentukkan kalus terlebih dahulu. Sedangkan pada perlakuan auksin picloram, akar tumbuh pada bagian aksis biji dengan didahului oleh pembentukkan kalus putih. Perbedaan juga terdapat pada bentuk akar yang tumbuh, pada media tanpa auksin eksplan hanya memiliki 1 – 2 akar, namun pada perlakuan media dengan penambahan picloram akar tumbuh dalam jumlah yang sangat banyak.

Berdasarkan hasil analisis ragam yang disajikan pada Tabel 13, perlakuan 1.0 mg/L picloram tanpa BAP memberikan respon yang tertinggi terhadap pembentukan akar dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Jumlah akar yang terbentuk pada perlakuan 1.0 mg/L picloram tanpa BAP yaitu sebesar 98.3%.

Tabel 13. Interaksi taraf konsentrasi auksin (2,4-D, picloram dan NAA) dengan sitokinin (BAP) terhadap rata-rata persentase kotiledon berakar

Perlakuan	Waktu Pengamatan HST (Hari Setelah Tanam)			
	9 HST	21 HST	33 HST	45 HST
A0B0	48.3 c	73.3 b	73.3 bc	73.3 c
A0B1	18.3d	65 bc	65 c	65 c
A1B0	0 e	1.6 e	10 e	10 e
A1B1	0 e	0 e	1.6 e	1.6 e
A2B0	0 e	0 e	0 e	0 e
A2B1	0 e	0 e	0 e	0 e
A3B0	85 a	96.6a	98.3 a	98.3 a
A3B1	1.6 e	56.6 c	76.6 bc	85 b
A4B0	68.3 b	76.6 b	81.6 b	83.3 b
A4B1	6.6 e	25d	38.3 d	43.3 d
A5B0	0 e	0 e	0 e	0 e
A5B1	0 e	0 e	0 e	0 e
A6B0	0 e	0 e	0 e	0 e
A6B1	0 e	0 e	0 e	0 e

Ket : Tanda huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji jarak berganda Duncan (DMRT) pada taraf 5%

Penambahan zat pengatur auksin secara tunggal kedalam media kultur mampu menginduksi akar pada eksplan, karena salah satu fungsi utama dari auksin adalah sebagai perangsang pertumbuhan akar (Wattimena, 1992).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Percobaan I

Perlakuan jenis media MS, B5, dan WPM yang dikombinasikan dengan konsentrasi 2,4-D sebesar 0, 0.5, 1.0 dan 1.5 mg/L tidak dapat menginduksi embrio somatik. Respon yang diberikan oleh eksplan yaitu berkecambah dan berkalus.

Percobaan II

Terdapat interaksi antara taraf konsentrasi auksin dengan konsentrasi BAP terhadap induksi embrio somatik dengan menggunakan kotiledon biji tua. Embrio somatik berhasil di induksi pada perlakuan 1.0 mg/L 2,4-D + 0.1 mg/L BAP, 2.0 mg/L picloram + 0.1 mg/L BAP, 1.0 mg/L dan 2.0 mg/L NAA tanpa BAP maupun yang dikombinasikan dengan BAP. Jumlah eksplan yang menghasilkan embrio tertinggi yaitu pada perlakuan 1.0 mg/L dan 2.0 mg/L NAA tanpa BAP sebesar 0.77 eksplan. Jumlah embrio per eksplan yang tertinggi terbentuk pada perlakuan 2.0 mg/L NAA tanpa BAP yaitu sebesar 1.35 embrio.

DAFTAR PUSTAKA

Deptan. 2008. Basis Data Produksi Tanaman Hortikultura. Pusat Data dan Informasi Pertanian. [3 Desember 2009]
<http://www.dibuah.hortikultura.deptan.go.id>

- Extonet. 1995. Streptomycin.
http://pmep.cce.cornel.edu/profiles/extonet/Pyrethrins-ziran/streptomycin_ext.html
- Kageyama, K., K. Yabe and S. Miyajiyama. 1991. Somatic embryogenesis in suspension culture of mature seed of Cucumis melo L. Japan. J. Breed. 41 : 273-278.
- Gunawan. L. W. 1992. Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman. PAU Bioteknologi IPB. Bogor. 252 p.
- Oridate, T. and K. Oosawa. 1986. Somatic embryogenesis and Plant Regeneration from Suspension Callus Culture in Melon (*Cucumis melo* L.). Japan. J. Breed. 36 : 424-428.
- Prajnanta, Final. 2002. Melon. Penebar Swadaya. Jakarta. 163 p.
- Purnamaningsih, R. 2002. Regenerasi tanaman melalui embryogenesis somatik dan beberapa gen yang mengendalikannya. Bul. Agrobio 5(2): 51-58.
- Setiadi dan Parimin, 2001. Bertanam Melon (Edisi Revisi). Penebar Swadaya, Jakarta.
- Wattimena, G. A. 1992. Zat Pengatur Tumbuh Tanaman. PAU IPB-LSI IPB. Bogor. 247 p.
- William, E. G. and Maheswara. 1986. Somatic Embryogenesis Factor Influencing Coordinated behavior of Cell as on Embiogenic Group. Ann. Bot. 68: 443 – 462.
- Yutaka, T., T. Kanno and T. Nishio. 1991. Regulation of organogenesis and somatic embryogenesis by auxin in melon, *Cucumis melo* L. Japan. Plant Cell reports. 10: 225-229.

