

KULTUR JARINGAN ROTAN¹⁾

TISSUE CULTURE OF RATTAN

Livy Winata Gunawan²⁾

ABSTRACT

Plant regeneration in rattan manau through tissue culture technique as an alternative in preparing planting stock has been studied since 1986.

Plant regeneration through direct organogenesis was obtained in cultures derived from mature embryos in MS media supplemented with auxin and cytokinin. Cytokinin BAP and kinetin at the rate of 2-6 mg/l used in separate experiments showed similar results in percentage of culture with multiple shoot and the average number of shoot per culture. Auxin 2,4-D induced adventitious shoots which were pale and big, while IAA and NAA induced axillary shoot at the initial stage. The rate of auxin tested was 1-2 mg/l.

During long term subculture, the rate of multiplication increased at the second and third subculture and then declined. Somatic embryos were found in several cultures, after the fourth subcultured. Cultures forming somatic embryos showed steady rate of multiplication.

Transfer of plantlets to autotroph media had been achieved by growing plantlets at 100% humidity, 26° and 50% of the natural light intensity in soil : compost : sand (1:1:1) medium.

RINGKASAN

Regenerasi rotan manau melalui teknik kultur jaringan sebagai alternatif dalam usaha penyediaan bahan tanaman, telah dipelajari sejak tahun 1986.

Regenerasi melalui organogenesis langsung, terjadi dengan menggunakan eksplan embrio dewasa dalam media MS dengan kehadiran auksin dan sitokinin 2-6 mg/l. Jenis sitokinin BAP dan kinetin yang diuji pada percobaan terpisah, memberikan hasil yang hampir sama dari segi persentase kultur bermultiplikasi dan rata-rata jumlah pucuk per

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

2) Jurusan Budi Daya Pertanian, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor

kultur. Auksin 2,4-D menginduksi pucuk adventif yang pucat dan gemuk, sedangkan IAA dan NAA menginduksi pucuk aksilar pada inisiasi awal.

Dalam subkultur panjang, kecepatan multiplikasi meningkat pada subkultur ke dua dan ke tiga, kemudian menurun. Dalam beberapa kultur, setelah subkultur ke empat, ditemukan embrio somatik. Kultur yang membentuk embrio somatik, tidak menunjukkan penurunan kecepatan multiplikasi.

Pemindahan planlet ke media autotroph berhasil dengan baik dengan mengatur kelembaban 100%, temperatur tidak lebih dari 26°C dan intensitas cahaya 50%, dengan media pasir : kompos : tanah = 1:1:1.

PENDAHULUAN

Latar Belakang dan Masalah

Dalam bidang kehutanan, masalah yang paling menonjol di negara berkembang pada umumnya adalah penyusutan areal hutan secara cepat dan tidak terkendali. Menurut Sumitro (1986), keadaan ini menimbulkan masalah pada 4 bidang besar:

1. Lingkungan: Perubahan iklim global dan regional serta siklus karbon dalam biosfir.
2. Ekologi : Perubahan sifat air dan tanah, kehidupan hewan kecil, insek dan sebagainya, serta kemungkinan kehilangan plasma nutfah tanaman yang penting.
3. Sumber daya alam : Kemungkinan ketersediaan untuk generasi mendatang.
4. Konsumen : Kesinambungan suplai pada masa panjang.

Untuk mengatasi masalah ini tergantung dari prioritasnya, negara-negara berkembang mencoba salah satu atau beberapa pendekatan sebagai berikut:

- a. Penanaman kembali areal hutan yang telah dibuka.
- b. Pemantapan sistem Agroforestry dan hutan lindung.
- c. Pengembangan hutan tanaman industri.

- d. Konservasi genetik dari jenis-jenis yang penting dalam dunia komersial.

Kebutuhan dalam pendekatan-pendekatan ini adalah ketersediaan bahan tanaman, pengembangan jenis-jenis pohon yang resisten terhadap hama, penggunaan mikroorganisme untuk membantu nutrisi, pengembangan tanaman dengan sistem perakaran yang lebih baik. Seleksi dan pemuliaan tanaman kehutanan secara konvensional merupakan proses yang sangat panjang, demikian juga usaha baru yang dapat merupakan jalan pintas mencapai tujuan.

Perkembangan dalam bidang biokimia tanaman dan fisiologi tanaman, telah membuka dimensi baru dalam perbaikan sifat tanaman dengan menyumbangkan 2 teknik baru sehingga hal-hal yang secara konvensional sukar tercapai, dapat dilaksanakan. Demikian juga hibrida yang baru diperoleh, dapat diperbanyak secara cepat dalam jumlah besar, sehingga pelepasan jenis baru dapat dipercepat. Teknik yang pertama adalah teknik untuk mengisolasi, menumbuhkan, memanipulasi, serta meregenerasikan bagian-bagian tertentu dari tanaman seperti protoplasma atau bagian yang lebih besar yaitu sel, jaringan dan organ. Teknik ini dikenal dengan teknik kultur jaringan atau teknik kultur *in vitro*. Teknik yang kedua adalah teknik DNA atau rekayasa genetik yang memungkinkan manipulasi di tingkat molekuler dari suatu sel.

Kultur Jaringan Tanaman Berkayu

Dalam pemanfaatan teknik kultur jaringan untuk pengembangan tanaman berkayu pada umumnya dan tanaman kehutanan pada khususnya, ditemui rintangan ilmiah dalam hal regenerasi tanaman yang *true-to-type* untuk diterapkan pada skala ekonomis. Salah satu famili tanaman yang sulit diregenerasikan adalah famili palmae. Palmae yang bernilai

ekonomi tinggi diantaranya: kelapa sawit, kelapa, kurma, sagu, dan rotan. Teknik kultur jaringan kelapa sawit telah diteliti secara luas dan telah diaplikasikan dalam skala komersil. Sementara palmae lain masih dalam pengembangan. Rotan termasuk salah satu palmae yang sedang diteliti secara intensif dan produksi skala pilot telah dicobakan. Namun pengembangan selanjutnya masih diperlukan.

Kegiatan penelitian kultur jaringan rotan telah dimulai pada tahun 1985, dengan publikasi dari Yusoff & Manokaran (1985). Dengan menggunakan eksplan embrio, diperoleh kalus friable rotan manau yang pada subkultur menghasilkan embrio. Tetapi dalam laporannya, tidak dirinci frekwensi pembentukan embrio dan jumlah embrio somatik per kultur yang terbentuk.

Penelitian di Philipina yang dilakukan oleh Umali Garcia (1985) pada *Calamus merilii* dan *C. ornatus* serta Barba et al pada *Calamus manilensis*, menghasilkan regenerasi melalui organogenesis dengan rata-rata 4 pucuk per kultur.

Kultur jaringan rotan manau, juga sudah dipelajari di Indonesia (Gunawan & Yani, 1986; Gunawan, 1990). Regenerasi melalui pucuk adventif dan aksilar telah diperoleh. Namun perbaikan teknik regenerasi, kemantapan dalam subkultur panjang, dan peralihan planlet dari keadaan heterotroph menjadi autotroph, terus dilakukan dari tahun 1986-1991. Hasil penelitian diringkas dalam makalah ini.

METODOLOGI

Penelitian dilaksanakan di laboratorium kultur jaringan Jurusan Budi Daya Pertanian, Fakultas Pertanian IPB. Sebagai sumber eksplan digunakan pucuk tanaman muda, daun muda tanaman dewasa, dan embrio yang dikumpulkan dari

beberapa daerah di Indonesia. Sterilisasi meliputi perendaman dalam larutan Clorox 20%, 10%, dan 5%, masing-masing 7 menit dan dibilas 3 kali dalam aquadest steril. Setiap perlakuan terdiri dari 15-25 ulangan.

Media tumbuh yang digunakan adalah media dasar Murashige & Skoog dengan berbagai zat pengatur tumbuh sesuai dengan perlakuan. Golongan auksin yang digunakan: IAA, NAA dan 2,4-D, sedangkan sitokinin yang digunakan adalah: kinetin dan BAP. Konsentrasi auksin yang digunakan 1, 2, dan 3 mg/l, sedangkan sitokinin : 1, 2, 4 dan 6 mg/l. Ke dalam media ditambahkan 2 mg/l glycene, 100 mg/l myo-inositol, 0.5 mg/l thiamine, 0.1 mg/l niacin dan 0.1 mg/l piridoksin, sukrosa 30 g/l dengan pH media 5.8 dan dipadatkan dengan 7 g/l agar.

Kultur yang diperoleh, kemudian disubkultur secara beruntun hingga 6 kali pada media yang sama. Setiap pasage mengalami masa inkubasi 8 minggu. Planlet yang diperoleh diaklimatisasikan pada media tumbuh dengan campuran:

1. Pasir
2. Pasir : kompos : tanah = 1 : 1 : 1
3. Pasir : kompos = 1 : 1

Tanaman diberi pupuk cair melalui daun setiap minggu. Lingkungan aklimatisasi : intensitas cahaya 50% dengan temperatur rata-rata 22 - 23°C.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Inisiasi Kultur

Kultur yang organogenik, tidak berhasil diperoleh dari eksplan pucuk tanaman muda dan daun muda. Kultur membentuk kalus, namun kalus tidak berhasil diregenerasikan. Kultur yang organogenik diperoleh dari eksplan embrio

dewasa. Embrio muda membentuk kalus yang baik, namun frekuensi regenerasi sangat rendah. Oleh karena itu penelitian-penelitian lanjutan menggunakan embrio dewasa.

Pertumbuhan kultur

Eksplan embrio mengalami perkecambahan terlebih dahulu, baru kemudian terjadi multiplikasi. Perkecambahan embrio dipengaruhi konsentrasi sitokinin yang diberikan. Persentase perkecambahan dan perkembangan embrio dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Persentase perkecambahan dan perkembangan embrio *Calamus manan* pada berbagai level IAA dan kinetin, 8 minggu setelah kultur

IAA	Kinetin	% perkecambahan	% kultur dengan pucuk majemuk	Jumlah pucuk
0	0	34.3 (12/30)*	0	12
1	2	76.9 (20/26)	20.0 (4/20)**	20
	4	50.0 (14/28)	57.1 (8/14)	22
	6	36.4 (8/22)	0	8
2	2	46.2 (12/26)	0	12
	4	66.7 (20/30)	20.0 (4/12)	20
	6	27.8 (10/36)	60.0 (6/10)	16
3	2	33.3 (7/21)	28.6 (2/7)	9
	4	47.1 (16/34)	0	16
	6	42.9 (9/21)	0	9

* Jumlah kecambah / jumlah embrio

** Kultur pucuk majemuk / Jumlah embrio yang berkecambah

Untuk memperbaiki perkecambahan dan regenerasi dalam kultur, penggunaan NAA DAN BAP dicobakan. Pengaruh NAA dan BAP, ternyata tidak banyak berbeda. Hasil pertumbuhan dan regenerasi, dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Pengaruh NAA dan BAP pada pertumbuhan dan perkecambahan *Calamun manan*, 12 minggu setelah kultur.

NAA (mg/l)	BAP	% perkecambahan	% kultur dengan pucuk majemuk	rata-rata jumlah pucuk per kultur
1	2	66.7	27.8	3.2 ± 1.6
	4	80.0	18.2	2.6 ± 0.9
2	2	66.7	17.4	4.8 ± 3.6
	4	26.7	26.0	3.6 ± 2.4

Pucuk yang terbentuk pada inisiasi adalah pucuk aksilar dari ketiak daun paling dekat dengan media.

Penggunaan 2,4-D memberikan hasil sebagai berikut (Tabel 3):

Tabel 3. Pengaruh 2,4-D dan BAP pada pertumbuhan dan perkembangan rotan manau

2,4-D (mg/l)	BAP	% kultur dengan tunas > 1	Rata-rata jumlah tunas / kultur
1	2	60 (15/25)	4.3 ± 2.1
	4	60 (15/25)	5.0 ± 2.6
2	2	56 (14/25)	5.0 ± 2.2
	4	64 (16/25)	4.8 ± 3.6

Percobaan dengan auksin 2,4-D memberikan pucuk yang pucat dan lebih gemuk. Pucuk terbentuk melingkar pada dasar pucuk awal/pucuk asal. Tampaknya, pucuk yang terbentuk merupakan pucuk adventif.

Percobaan Subkultur

Dalam percobaan subkultur, digunakan media NAA 1 mg/l dengan BAP 4 mg/l. Dalam subkultur, ditemukan pucuk aksilar bercampur dengan pucuk adventif. Kecepatan multiplikasi meningkat pada subkultur ke 2 dan ke 3, kemudian menurun pada subkultur ke 4 dan seterusnya (Tabel 4). Namun dalam beberapa kultur tertentu, kecepatan multiplikasi tetap, bahkan meningkat. Hal ini disebabkan dalam kultur tersebut terjadi tipe regenerasi lain yaitu melalui embriogenesis.

Tabel 4. Jumlah tunas yang diperoleh pada 6 kultur pada subkultur I - IV pada media dengan 4 mg/l BAP dan 1 mg/l NAA

No. kultur sampel	Jumlah eksplan awal	Jumlah tunas akhir pada subkultur ke					
		I	II	III	IV	V	VI
1	1	2	3	3	3	9	11
2	1	7	50	276	300	320	390
44	1	2	12	38	58	84	140
46	1	2	6	15	33	53	98
68	1	2	6	19	22	38	79
84	1	3	13	23	33	78	108
Rata-rata	1	3	15	62.3	75.7	97	137.7
Kecepatan multiplikasi		3	5	4.13	1.20	1.28	1.42

Tunas-tunas yang diperoleh dapat diakarkan dengan penanaman pucuk pada media MS 1/2 dengan IBA 5 mg/l.

Pembentukan embrio somatik merupakan hasil yang sangat menarik dalam aplikasi teknik kultur jaringan untuk membantu penyediaan bahan tanaman. Selain jumlah yang lebih tinggi, juga embrio tidak membutuhkan tahap pengakaran sehingga prosedur dapat dipersingkat.

Percobaan Aklimatisasi

Untuk melengkapi penelitian mengenai kultur jaringan rotan manau dalam menjadikan planlet yang diperoleh merupakan bibit siap tanam, maka diadakan penelitian aklimatisasi. Tahap peralihan ini seringkali merupakan faktor pembatas dalam aplikasi teknik *in vitro*.

Pemindahan planlet *in vitro* ke lapangan, dilakukan dengan beberapa media tumbuh. Setiap perlakuan terdiri dari 10 tanaman. Hasil yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Jumlah dan persentase planlet yang hidup dalam berbagai media tumbuh, 4 minggu setelah aklimatisasi

Media Tumbuh	Jumlah (%) planlet hidup			
	minggu I	minggu II	minggu III	minggu IV
Pasir	10 (100%)	10 (100%)	8 (80%)	8 (80%)
Pasir:tanah:kompos	10 (100%)	9 (90%)	9 (90%)	9 (90%)
Pasir:kompos	10 (100%)	9 (90%)	9 (90%)	8 (80%)

Persentase planlet hidup hampir sama pada ketiga media percobaan, namun media pasir:tanah:kompos memberikan hasil yang paling baik.

Aklimatisasi dengan persentase keberhasilan tinggi ini bukan saja akibat media perlakuan, namun juga karena temperatur dan intensitas pencahayaan yang diberikan tepat. Planlet yang hidup dipelihara untuk evaluasi selanjutnya.

KESIMPULAN

1. Regenerasi dalam kultur rotan manau dapat terjadi dengan auksin baik IAA, NAA, maupun 2,4-D. Namun, 2,4-D menginduksi pucuk yang kurang baik kualitasnya.
2. Regenerasi dapat terjadi melalui pembentukan pucuk yang bercampur dengan embrio somatik.
3. Kecepatan multiplikasi tunas rotan manau melalui pembentukan tunas makin menurun setelah subkultur ke 3, kecuali bila terjadi pembentukan embrio somatik.
4. Aklimatisasi planlet membutuhkan lingkungan kelembaban 100% dengan intensitas 50%, temperatur maksimum 26° C dengan media aklimatisasi pasir-kompos-tanah dengan perbandingan 1:1:1.

DAFTAR PUSTAKA

- Barba, R.C., L. Patena, M.M. Mercado, and A. Lorico. 1985. Tissue culture of rattan (*Calamus manilensis*) H. Wendl. Simposium Kultur TISU Tumbuhan Kebangsaan Ke II dan bengkel Tisu Getah Antara Bangsa. Oktober 15-17, 1985. Kuala Lumpur, Malaysia.
- Gunawan, L.W. and S.A. Yani. 1986. *In vitro* propagation of rattan manau (*Calamus manan Mig*) for Agroforestry Plantation. Abst. THE Sixth International Congress of Plant Tissue and Cell Culture. University of Minnessota. Minneapolis. 282.
- _____. 1990. Propagation of rattan manau (*Calamus manan*) by *in vitro* technique. Indon. J. Trop. Agric. Vol 1(1): 40-43.
- Sumitro. A. 1990. Propagation, rehabilitation, and utilization of tropical forest in Southeast Asia. Proceedings of The International Seminar on Comperative Agricultural Studies in Southeast Asia. Denpasar, Indonesia.

Umali - Garcia, M. 1985. Tissue culture of some rattan species. In: Wang & Manokaran (eds.): Proceedings of The Rattan Seminar. Kuala Lumpur, Malaysia. The Rattan Information Centre. Forest Research Institute, Kepong, Malaysia.

Yusoff, Aziah M., and N. Manokaran. 1985. Seed and Vegetative propagation of rattans. In: Wang & Manokaran (eds.). Proceedings of The Rattan Seminar. Kuala Lumpur, Malaysia. The Rattan Information Centre, Forest Research Institute, Kepong, Malaysia.