PROGRAM KREATIVITAS MAHASISWA

PENINGKATAN VARIASI SOMAKLONAL TANAMAN KRISANTIMUM MELALUI INDUKSI KALUS

Jenis Kegiatan
PKM Artikel Ilmiah

Diusulkan oleh :

Vicky Saputra	A24050609 (2005)
Muhammad Muzahid	G24070056 (2007)
Dania Siregar	G14080015 (2008)
Arni Nurwida	G14080022 (2008)
Yuli Astuti	G74060893 (2006)

INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2009

HALAMAN PENGESAHAN PROGRAM KREATIVITAS MAHASISWA

1. Judul Kegiatan : Peningkatan Variasi Somaklonal Tanaman Krisantimum melalui Induksi Kalus
2. Bidang Ilmu : (X) PKM-AI ( ) PKM-GT

3. Ketua Pelaksana Kegiatan/Penulis Utama
   a. Nama Lengkap : Vicky Saputra
   b. NIM : A24050609
   c. Departemen : Agronomi dan Hortikultura
   d. Perguruan Tinggi : Institut Pertanian Bogor
   e. Alamat Rumah dan No. Tel./HP : Kampung Kamurang Rt 04 Rw 01 No. 65, Citeureup, Bogor / 085281083525
   f. Alamat Email : khu_sut87@yahoo.co.id
4. Anggota Pelaksana Kegiatan : 4 orang
5. Dosen Pendamping
   a. Nama Lengkap dan Gelar : Dr. Ir. Kikin Hamzah Mutaqin, MSi
   b. N I P : 132 055 228
   c. Alamat Rumah dan No. Tel./HP : Desa Bantarjaya Rt 01 Rw 01 No. 9A, Rancabungur Bogor 16310, 0251-7543525/ 081572020550

Menyetujui

Bogor, 28 Februari 2009

Ketua Pelaksana Harian Departemen Proteksi Tanaman
Institut Pertanian bogor

(Dr.Ir.Giyanto,MSi)
NIP 132 055 227

Ketua Pelaksana

(Vicky Saputra)
NIM. A24050609

Wakil Rektor Bidang Akademik dan Kemahasiswaan

(Prof.Dr.Ir.H. Yonny Kusmaryono, MS)
NIP. 131 473 999

Dosen Pembimbing

(Dr. Ir. Kikin Hamzah Mutaqin, MSi)
NIP 132 055228

PENINGKATAN VARIASI SOMAKLONAL TANAMAN KRISANTIMUM MELALUI INDUKSI KALUS

Vicky Saputra, Muhammad Muzahid, Yuli Astuti, Arni Nurwida, Dania Siregar
Deparetemen Agronomi Hortikultura
Fakultas Pertanian
Institut Pertanian Bogor

ABSTRAK

Keragaman genetik juga mempunyai arti yang sangat penting, terutama di bidang pemuliaan tanaman (plant breeding). Variasi genetik ini berlangsung secara tetap dan tidak adanya pengaruh atau campur tangan lingkungan. Keragaman genetik pada tanaman dapat ditingkatkan dengan melalui kultur kalus pada sel somatik atau dengan kata lain disebut dengan variasi somaklonal. Variasi somaklonal tergantung dari variasi alami yang terkandung di dalam kumpulan sel, baik genetik ataupun epigenetik yang dapat diamati pada planlet yang telah mengalami regenerasi. Keuntungan utama dari variasi somaklonal adalah meningkatkan pengadaptasian variabilitas genetik, membentuk tanaman yang berguna dari segi agronomi, tanpa proses hibridisasi. Variasi ini akan berguna jika seleksi in vitro dimungkinkan terjadi atau metode pemeriksaan secara cepat yang tepat. Hal ini dapat dipercaya bahwa variasi somaklonal dapat ditingkatkan selama kultur in vitro untuk beberapa karakter, seperti resisten terhadap penyakit, herbisida, dan toleransi terhadap lingkungan dan stress terhadap bahan kimia. Pada kegiatan ini dilakukan metode peningkatan variasi somaklonal tanaman krisantimum melalui induksi kalus. Variasi genetik dari sel somatik dapat ditingkatkan melalui induksi kalus secara in vitro. Variasi ini dapat dilihat dengan melihat variasi terbentuknya kalus yang timbul dari eksplan pada planlet krisantimum yang ditanam. Waktu pembentukan kalus bervariasi antar ulangan. Sebagian besar kalus muncul pada minggu ketiga setelah tanam dengan rata-rata sekitar 33.3%.

Kata kunci : variasi somaklonal, induksi kalus, keragaman genetik.

PENDAHULUAN

Keragaman mempunyai arti yang sangat besar dalam kehidupan. Tanpa adanya keragaman atau dengan kata lain segala sesuatu mempunyai kesamaan tentunya akan terjadi keadaan yang disharmony. Suatu benda yang sama dengan benda yang lain tentunya akan menjadi suatu ganjalan yang dapat mempengaruhi aspek kehidupan.

Begitu pula dengan tanaman, keragaman genetik juga mempunyai arti yang sangat penting, terutama di bidang pemuliaan tanaman (plant breeding). Variasi genetik ini berlangsung secara tetap dan tidak adanya pengaruh atau campur tangan lingkungan. Keragaman genetik pada tanaman dapat ditingkatkan dengan melalui kultur kalus pada sel somatik atau dengan kata lain disebut dengan variasi somaklonal.

Secara teori variasi somaklonal mempunyai arti bahwa variasi genetik yang terjadi pada sel somatik yang membelah secara cepat dan tidak sempurna sehingga variasi somaklonal ini tidak dikehendaki terjadi. Ini dikarenakan bibit yang dihasilkan menjadi berbeda dan sulit untuk mendeteksi bibit yang bermutasi pada tingkat planlet.

Sehingga sampai sekarang tidak ada tanaman yang baik dan penting secara agronomi yang dihasilkan melalui variasi somaklonal.

Kalus merupakan kumpulan sel yang tidak atau belum terorganisasi, yang terbentuk dari hasil pembelahan yang cepat. Menurut Dodds (1987), kalus adalah pertumbuhan yang tidak normal yang berpotensi untuk membentuk akar, tunas, dan embrio yang dapat membentuk tanaman. Di dalam kultur jaringan (in vitro culture), kalus dapat diinduksi dengan cara menambahkan zat pengatur tumbuh (ZPT) yang sesuai. Secara teori setiap organ tanaman dapat diinduksi membentuk kalus melalui proses dediferensiasi. Akan tetapi kemampuan tiap organ ini bervariasi, ada yang gagal membentuk embrio, hanya membentuk akar, atau menghasilkan embrio.

Dengan kemampuan seperti inilah kalus dapat diinduksi atau dikulturkan pada sel somatiknya guna meningkatkan variasi genetik. Variasi genetik pertama kali dilaporkan dalam hal perbaikan sifat tanaman ditemukan pada tembakau dan tebu (Heinz dan Mee, 1971).

Variasi genetik dapat ditingkatkan dengan menambahkan auksin 2,4-D. Secara umum variasi genetik dapat terjadi karena jumlah kromosom menjadi dua kali atau lebih, kehilangan satu atau lebih kromosom, kelebihan satu atau lebih kromosom, kelebihan/kekurangan potongan kromosom, serta mutasi DNA atau gen tertentu.

Variasi somaklonal tergantung dari variasi alami yang terkandung di dalam kumpulan sel, baik genetik ataupun epigenetik yang dapat diamati pada planlet yang telah mengalami regenerasi (Larkin dan Scowcroft, 1981). Variasi somaklonal itu sendiri tidak terlihat sebagai suatu fenomena yang mudah dan memperlihatkan kondisi sebelum terjadinya variasi genetik sel atau variabel induksi kultur jaringan.

Variasi ini secara umum meliputi kehilangan dan penyusunan kembali inti kromosom (nuclear chromosomal rearrangement), perbanyakan dan penyusutan gen, kombinasi ulang mitosis yang tidak resiprokal, aktivasi bagian yang dapat dipindahkan, mutasi titik yang terlihat, dan aktivasi gen yang tidak aktif pada kondisi multigen (Scowcroft et al., 1987).

Banyak variasi yang diamati pada tanaman yang ditumbuhkan secara in vitro memiliki potensial pertanian yang signifikan, yang meliputi perpindahan dalam proses pigmentasi tanaman, benih yang dihasilkan, kesuburan dan ukuran tanaman, morfologi daun dan bunga, minyak esensial, kerapatan buah, dan toleransi terhadap penyakit. Variasi ini terlihat dari beberapa tanaman, seperti gandum, beras, oats dan jagung, tebu, tembakau, tomat, kentang, dan seledri.

Variasi di atas terkandung dalam sel somatik dan protoplas, yang juga dapat terkandung dalam jaringan gamet (Evans et al., 1984). Sehingga secara umum dapat dikatakan bahwa variasi somaklonal merupakan pembatasan terhadap tanaman yang telah diregenerasikan melalui organogenesis, terutama jika fase pembentukan kalus sudah terjadi.

Keuntungan utama dari variasi somaklonal adalah meningkatkan pengadaptasian variabilitas genetik, membentuk tanaman yang berguna dari segi agronomi, tanpa proses hibridisasi (Scowcroft et al., 1986). Variasi ini akan berguna jika seleksi in vitro dimungkinkan terjadi atau metode pemeriksaan secara cepat yang tepat. Hal ini dapat dipercaya bahwa variasi somaklonal dapat ditingkatkan selama kultur in vitro untuk beberapa karakter, seperti resisten terhadap penyakit, herbisida, dan toleransi terhadap lingkungan dan stress terhadap bahan kimia.

Tujuan

Tujuan percobaan ini adalah mengetahui peningkatan variasi somaklonal tanaman krisantimum melalui induksi kalus.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat

Kegiatan praktikum mata kuliah Dasar Bioteknologi Tanaman dilaksanakan pada tanggal 23 Oktober 2007 sampai dengan 18 Desember 2007 yang bertempat di Laboratorium Kultur Jaringan Departemen Agronomi Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor.

Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan dalam percobaan ini adalah daun dan internode dari planlet krisantimum yang dikulturkan pada media MS tanpa ZPT. Media yang digunakan untuk menginduksi kalus adalah media MS + 4 mg/L CAP + 1 mg/L BAP + 20 g/L gula dengan pH 5.8 yang ditambahkan ZPT perangsang kalus 1,2, dan 3 mg/L 2,4-D.

Alat yang digunakan dalam percobaan antara lain laminar flow cabinet, pisau scalpel, botol kultur, lampu bunsen, gunting, petridish, hand sprayer, dan tisu yang telah disterilkan.

Metode percobaan

Metode yang digunakan dalam percobaan ini adalah dengan memotong dan menanam eksplan daun dan internode planlet krisantimum yang telah dilukai pada media perlakuan sebanyak 5 eksplan per botol. Daun dan internode masing-masing ditanam dalam botol yang berbeda. Hasil dari kerja kemudian disimpan di dalam ruang kultur.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Hasil Pengamatan Variasi Somaklonal

Tanggal	Ulangan	% eksplan berbentuk kalus	%eksplan membentuk tunas	∑ tunas per eksplan	% eksplan mati dan terkontaminasi	Penyebab kontaminasi
23/10/07 (1MST)	1	-	-	-	-	-
	2	33.3 %	Tidak ada data			
	3	-	-	-	100%(D1) 100%(D1) 100%(D2) 100%(D2)	-
	4	Kontam (D1) 0% (D2) 0% (D3)	14.81 %	-	85.19%	Bakteri dan cendawan
	5	kontaminasi				cendawan
	6	kontaminasi				cendawan
	7	kontaminasi				cendawan
	8	-	-	-	100%(D1) 100%(D1) 100%(D1) 100%(D2) 100%(D3)	-
	9	Data terpisah				
	10	Tidak ada data				
13/11/07 (2MST)	1	-	-	-	-	-
	2	Tidak ada data				
	3	10 % (D1) 10% (D2) 10% (D3)	25 % (D1) 25% (D2) 25% (D3)	-	-	-
	4	Kontam (D1) 0% (D2) 0% (D3)	14.81 %	-	85.19%	Bakteri dan cendawan
	5	kontaminasi				cendawan
	6	kontaminasi				cendawan
	7	kontaminasi				cendawan
	8	-	-	-	-	-
	9					
	10	Tidak ada data				
20/11/07 (3MST)	1	40 % (D1) 0% (D2) 0% (D3)	-	-	-	-
	2	Tidak ada data				

	3	15 % (D1)	50 % (D1)	-	-	-
		20% (D2) 50% (D3)	50% (D2) 25% (D3)			
	4	Kontam (D1) 0% (D2) 0% (D3)	14.81 %	-	85.19%	Bakteri dan cendawan
	5	kontaminasi				cendawan
	6	kontaminasi				cendawan
	7	kontaminasi				cendawan
	8	10%(D2) 10%(D2) 10%(D3) 15%(D3)	33.3%(D2) 33.3%(D2) 33.3%(D3) 50% (D3)	-	-	-
	9					
	10	kontaminasi				cendawan
27/11/07 (4MST)	1	60 % (D1) 0% (D2) 0% (D3)	-	-	-	-
	2	Tidak ada data				
	3					
	4	Kontam (D1) 3.70% (D2) 7.41% (D3)	14.81 %	-	85.19%	Bakteri dan cendawan
	5	kontaminasi				cendawan
	6	kontaminasi				cendawan
	7	kontaminasi				cendawan
	8	Tidak ada data				
	9	-	-	-	-	-
	10	kontaminasi				cendawan
4/12/07 (5MST)	1	60 % (D1) 40% (D2) 0% (D3)	20 % (D1) 0% (D2) 0% (D3)	1 tunas/ eksplan (D1)	-	-
	2	Tidak ada data				
	3	20 % (D1) 45% (D2) 60% (D3)	50 % (D1) 50% (D2) 25% (D3)	-	-	-
	4	Kontam (D1) 3.70% (D2) 7.41% (D3)	14.81 %	-	85.19%	Bakteri dan cendawan

	5	kontaminasi				cendawan
	6	kontaminasi				cendawan
	7	kontaminasi				cendawan
	8	35%(D2) 30%(D2) 30%(D3) 40%(D3)	66.67%(D2) 66.67%(D2) 66.67%(D3) 100%(D3)	-	-	-
	9	-	-	-	-	-
	10	kontaminasi				cendawan
11/12/07 (6MST)	1	80 % (D1) 40% (D2) 66.7% (D3)	60 % (D1) 0% (D2) 0% (D3)	1 tunas/ eksplan (D1)	-	-
	2	Tidak ada data				
	3	30 % (D1) 50% (D2) 70% (D3)	50 % (D1) 50% (D2) 25% (D3)	-	-	-
	4	Kontam (D1) 3.70% (D2) 7.41% (D3)	14.81 %	-	85.19%	Bakteri dan cendawan
	5	kontaminasi				cendawan
	6	kontaminasi				cendawan
	7	kontaminasi				cendawan
	8	80%(D2) 80%(D2) 85%(D3) 90%(D3)	66.67%(D2) 66.67%(D2) 66.67%(D3) 100%(D3)	-	-	-
	9	-	-	-	-	-
	10	kontaminasi				cendawan
18/12/07 (7MST)	1	80 % (D1) 60% (D2) kontam	60 % (D1) 0% (D2) 0% (D3)	1 tunas/ eksplan (D1)	-	Kontam akibat cendawan
	2					
	3	30 % (D1) 50% (D2) 70% (D3)	50 % (D1) 50% (D2) 25% (D3)	-	-	-
	4	Kontam (D1) 3.70% (D2) 7.41% (D3)	14.81 %	-	85.19%	Bakteri dan cendawan
	5	kontaminasi				cendawan
	6	kontaminasi				cendawan
	7	kontaminasi				cendawan

	8	-	-	-	-	-
	9	-	-	-	-	-
	10	kontaminasi				cendawan

Tabel 2. Hasil Pengamatan Variasi Somaklonal Ulangan 9

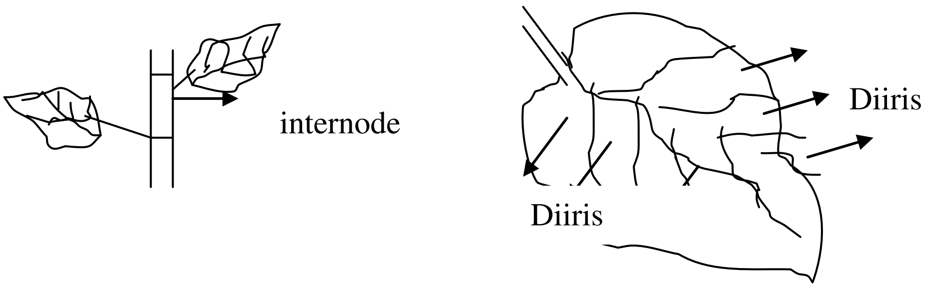
Eksplan	Perla-kuan	Ulangan	9 Okt 07	16 Okt 07	23 Okt 07	30 Okt 07	6 Nov 07	11 Des 07	18 Des 07
Daun Krisan	D1	1	Blm	Blm	Blm	Sdh	Sdh	Sdh	Sdh
		2	Blm	Kon	Kon	Kon	Kon	Kon	Kon
Daun Krisan	D2	1	Kon	Kon	Kon	Kon	Kon	Kon	Kon
		2	Kon	Kon	Kon	Kon	Kon	Kon	Kon
Daun Krisan	D3	1	Blm	Blm	Blm	Sdh	Sdh	Sdh	Sdh
		2	Kon	Kon	Kon	Kon	Kon	Kon	Kon
Inter-node	D1		Blm	Blm	Sdh	Sdh	Sdh	Sdh	Sdh
	D2		Kon	Kon	Kon	Kon	Kon	Kon	Kon
	D3		Kon	Kon	Kon	Kon	Kon	Kon	Kon

Keterangan:
Blm : belum terbentuk kalus
Sdh : sudah terbentuk kalus
Kon : planlet terkontaminasi

Persentase eksplan berkalus : 100%
Persentase eksplan bertunas : 85%
Persentase eksplan mati dan terkontaminasi : 66%
Penyebab kontaminasi : bakteri dan cendawan
Waktu terbentuk kalus pada daun : Minggu ke-4
Waktu terbentuk kalus pada intermode : Minggu ke-3
Waktu terbentuk tunas : Tunas belum terbentuk

Pembahasan

Dalam praktikum ini digunakan planlet krisantimum, yaitu bagian daun dan internode. Daun yang digunakan sebagai bahan praktikum terdiri dari dua bagian yang terpisah, yaitu daun krisantimum yang besar dan daun krisantimum yang kecil. Daun dan internode tersebut dilukai dengan maksud untuk mempercepat penyerapan media pengkalusan.



Gambar 1. Ilustrasi Pemotongan Daun dan Internode Planlet

Tabel 3. Waktu Terbentuk Kalus dan Waktu Terbentuk Tunas dari Kalus

Ulangan	Saat terbentuk kalus	Saat terbentuk tunas dari kalus
1	3 MST, 5 MST, 6 MST	4 MST
2	6 MST	Tidak ada data
3	3 MST	1 MST
4	4 MST	-
5	Kontaminasi	Kontaminasi
6	Kontaminasi	Kontaminasi
7	Kontaminasi	Kontaminasi
8	3 MST	Tidak ada data
9	4 MST(daun), 3 MST(internode)	-
10	Tidak ada data	Tidak ada data

Dari data di atas diketahui bahwa waktu pembentukan kalus dan tunas dari kalus bervariasi antar ulangan. Yang paling cepat menghasilkan kalus adalah pada ulangan 1, 3, dan 8 yaitu pada 3 MST. Terdapat beberapa ulangan yang mengalami kontaminasi yang disebabkan karena cendawan atau bakteri. Serta pada ulangan 10 tidak terdapat data yang menyebutkan waktu terbentuknya kalus dan tunas.

Kontaminasi yang disebabkan oleh cendawan dan bakteri mempunyai perbedaan. Biasanya oleh cendawan, pada media akan timbul seperti kapas dan menjadi keruh. Berbeda dengan bakteri yang menimbulkan warna pink (merah muda) pada media.

Pada pengamatan keragaman somaklonal baik itu persentase pembentukan kalus, persentase pembentukan tunas dari kalus, jumlah tunas per eksplan, persentase eksplan mati dan terkontaminasi, dan penyebab kontaminasi didapatkan hasil yang bervariasi antar ulangan. Terdapat ulangan yang pada minggu pertama setelah tanam (1 MST) sudah membentuk kalus, yaitu pada ulangan 2. -

Ada pula ulangan yang pada minggu pertama sudah terkontaminasi oleh cendawan dan bakteri. Variasi terbentuknya kalus yang besar dapat dilihat mulai dari minggu ketiga (3MST), dimana banyak ulangan yang menunjukkan sudah mulai terbentuknya kalus dan tunas.

Kelompok (ulangan) 2 tidak memberikan data sama sekali sehingga tidak dapat dianalisis lebih lanjut seperti pada ulangan yang lain.

Secara umum faktor-faktor yang mempengaruhi pembentukan kalus antara lain:

1. Eksplan

   Eksplan yang berupa bagian tanaman yang sedang aktif tumbuh akan sangat mudah untuk membentuk kalus, seperti jaringan meristem. Genotip tanaman induk juga akan sangat berpengaruh yang bersifat sekunder (secara tidak langsung) dari gen. Ukuran dan bentuk eksplan yang digunakan akan sangat berpengaruh terhadap pembentukan kalus.
2. Proliferasi kalus

   Sel yang terlibat dalam pembentukan kalus hanya sedikit yaitu yang bersentuhan langsung dengan media dan bagian eksplan yang terpotong.
3. Jenis media kultur

   Media merupakan faktor yang sangat penting dalam keberhasilan kultur sel (kultur kalus) karena menyediakan hara, mineral, vitamin, dan ZPT.
4. Metode Pengkulturan

   Metode pengkulturan sangat berpengaruh terhadap pembentukan kalus, apakah itu media padat-padat, padat-cair, atau cair-cair.
5. Regenerasi tanaman

KESIMPULAN

Variasi genetik dari sel somatik dapat ditingkatkan melalui induksi kalus secara in vitro. Variasi ini dapat dilihat dengan melihat variasi terbentuknya kalus yang timbul dari eksplan pada planlet krisantimum yang ditanam.

Waktu pembentukan kalus bervariasi antar ulangan. Sebagian besar kalus muncul pada minggu ketiga setelah tanam, yaitu pada pengamatan tanggal 20 November 2007 dengan rata-rata sekitar 33.3%.

Untuk menghasilkan kalus tidaklah mudah. Banyak ulangan yang eksplannya mati karena diserang cendawan dan bakteri atau karena lingkungan kerja yang tidak steril.

DAFTAR PUSTAKA

Gunawan, L.W. 1992. Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan. Depdikbud-Dirjendikti PAU Bioteknologi IPB. 165 Hal

Bhojwani, S.S. 1990. Plant Tissue Culture: Application and Limitation. New York: Elsevier Science Publishing Company Inc.

Dodds, B. V. 1987. Clonning Agriculture Plants Via Invitro Techniques. Florida: CRC Press Inc.

Farid, Muh. 2003. Perbanyakan Tebu (Saccharum officinarum L.) secara Invitro pada Berbagai Konsentrasi IBA dan BAP. Makassar: Jurusan Sains dan Teknologi.

Santoso, Untung. dan Nursandi, Fatimah. 2003. Kultur Jaringan Tanaman. Malang: UMM Pres.