

REVIEW KULTUR JARINGAN CENDANA (*Santalum album L.*)

Oleh :
Toni Herawan

disampaikan pada :
Seminar Nasional Bioteknologi Hutan

YOGYAKARTA, OKTOBER 2012

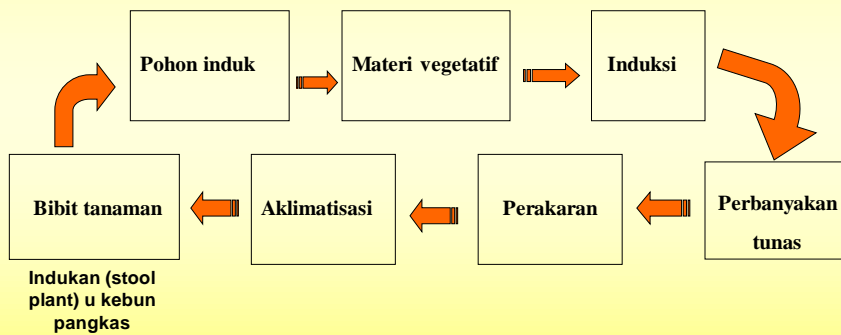


PENDAHULUAN

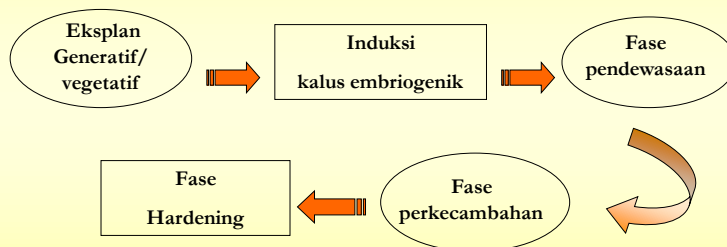
- ⊗ Cendana tumbuh dan berkembang secara alami di wilayah Indonesia (NTT)
- ⊗ Cendana merupakan komoditi (HHBK) yang bernilai ekonomi tinggi
- ⊗ Cendana mempunyai berbagai kegunaan : minyaknya (parfum, farmasi, dan untuk upacara keagamaan) ,kayunya (patung, kipas, tasbih, rosario, dll)
- ⊗ Potensi cendana saat ini sudah banyak menurun disebabkan al : laju eksploitasi lebih tinggi dibandingkan dengan upaya2 pelestarian; pencurian, kebakaran hutan, dll
- ⊗ Penyediaan bibit secara generatif tdk ada masalah, akan tetapi biji sulit didapat karena keberadaan pohon induk di populasi alam semakin terbatas
- ⊗ Pembiakan vegetatif secara konvensional (stek pucuk dan akar) telah lama dilakukan, akan tetapi persen keberhasilannya masih rendah
- ⊗ Ditempuh upaya aplikasi kultur jaringan (kultur tunas aksiler dan teknik Embriogenesis somatik

METODE KULTUR JARINGAN

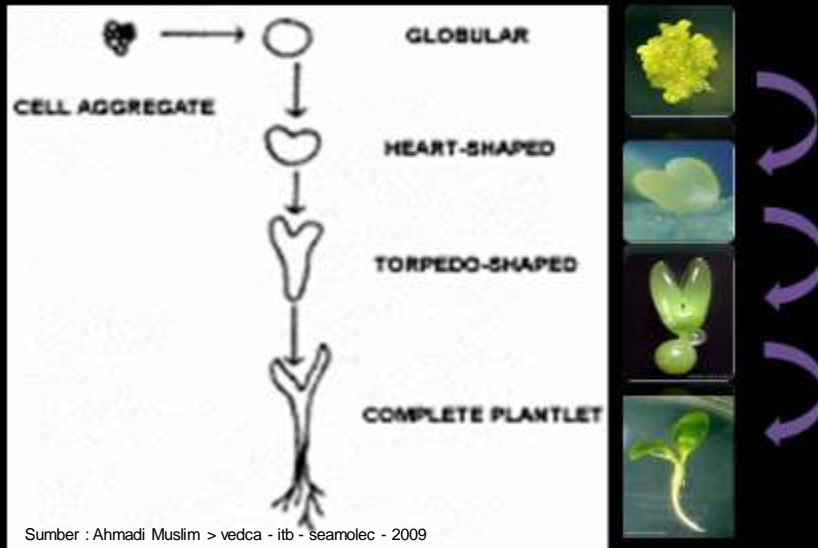
A. Kultur tunas aksiler (isolasi tunas aksiler dalam media yg mengandung unsur hara dlm keadaan steril dan kondisi tertentu)



B. Embriogenesis somatik (sel somatik baik haploid maupun diploid berkembang membentuk tumbuhan baru melalui tahap perkembangan embrio yang spesifik tanpa melalui fusi gamet)



Tahapan Pembentukan Embrio Somatik



I. PERBANYAKAN KLON CENDANA MELALUI KULTUR JARINGAN

Bahan penelitian dan Metode :

- Eksplan dari 4 klon yg berupa seedling umur 1 tahun
- Media : Induksi = MS + BAP 1 mg/l + NAA 0,1 mg/l
Multiplikasi = MS + BAP 0,5 mg/l + NAA 0,01 mg/l
- Alat : Laminar, pH meter, Autoclave, Oven, dll

-Pelaksanaan penelitian :

- Pemangkasan seedling
- Sterilisasi eksplan

-Rancangan Penelitian

- Induksi dan Multiplikasi menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) 1 faktor yaitu klon

-Parameter yg diuji :

- Induksi : persen induksi
- Multiplikasi : jumlah dan panjang tunas

-Analisis data :

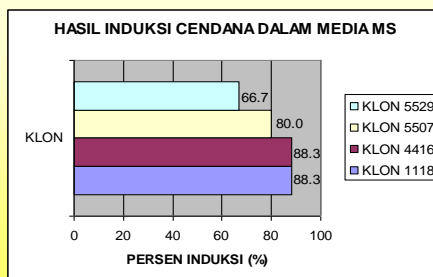
- Anova (analisis sidik ragam)
- DMRT



HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Tahap Induksi

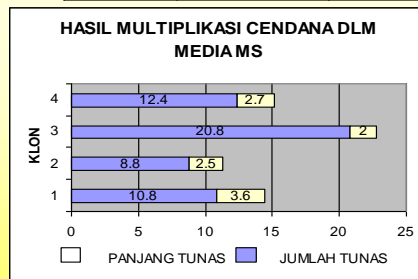
No. Klon	Jumlah sampel	Jumlah Induksi	Jumlah Kontaminasi	Jumlah mati/kering
1118	6	5	-	1
4416	12	10	2	-
5507	10	8	-	2
5529	9	6	-	3
Jumlah	37	29	2	6
Persentase (%)		78,38	5,4	16,2



B. Tahap Multiplikasi

Tabel 3. Hasil Multiplikasi Cendana Dalam Media MS

No Klon	Jumlah Sampel Uji	Rerata jumlah tunas	Rerata panjang tunas (Cm)
1118	5	10,6	3,6
4416	5	8,8	2,5
5507	5	20,8	2
5529	5	12,4	2,7
Rerata		13,2	2,7



Grafik Hasil Multiplikasi Cendana pada media MS



Hasil Multiplikasi Cendana pada media MS

II. PENGARUH JENIS MEDIA DAN KONSENTRASI ZPT KINETIN TERHADAP PERAKARAN CENDANA

Bahan penelitian dan Metode :

Eksplan hasil multiplikasi. Sumber eksplan dari pohon cendana umur 14 tahun

- Media perakaran = $\frac{1}{2}$ MS; $\frac{1}{2}$ GD; dan $\frac{1}{2}$ WPM
- ZPT Kinetin = (0; 0,25; 0,50; 0,75; dan 1,0 mg/l)
- IBA = 20 mg/l
- IAA = 1 mg/l
- Alat : Laminar, pH meter, Autoclave, Oven, dll

-Rancangan Penelitian

Induksi akar cendana menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) 2 faktor yaitu media & ZPT Kinetin

-Parameter yg diuji :

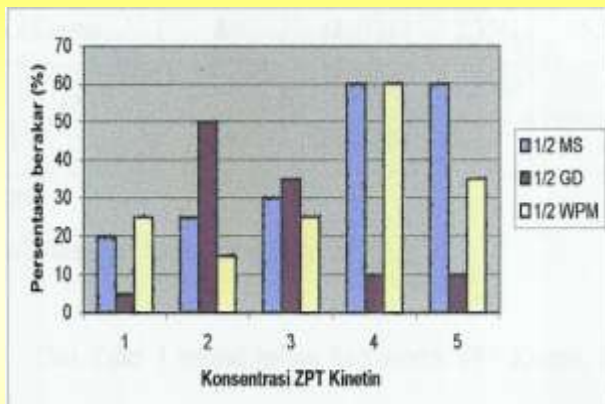
Persen (%) induksi akar cendana

-Analisis data :

Anova (analisis sidik ragam)
DMRT



HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN



KESIMPULAN :

Media dasar $\frac{1}{2}$ MS + IBA 20 mg/l + IAA 1 mg/l + Kinetin 0.75 mg/l respon terbaik terhadap perakaran Cendana walaupun tdk berbeda nyata dengan $\frac{1}{2}$ WPM + IBA 20 mg/l + IAA 1 mg/l + Kinetin 0.75 mg/l



HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 2. Uji DMRT Faktor Media + Konsentrasi ZPT Kinetin Terhadap Perkembangan akar Cendana

Media +Konsentrasi Kinetin	N	Rata-rata	Pengelompokan
½ MS + 0,75 mg/l Kinetin	20	4,600	A
½ WPM + 0,75 mg/l Kinetin	20	4,600	A
½ WPM + 1 mg/l Kinetin	20	4,550	AB
½ GD + 0,75 mg/l Kinetin	20	4,500	ABC
½ MS + 1 mg/l Kinetin	20	4,350	ABCD
½ MS + 0,5 mg/l Kinetin	20	4,200	ABCD
½ GD + 1 mg/l Kinetin	20	4,100	BCDE
½ GD + 0,50 mg/l Kinetin	20	4,100	BCDE
½ GD + 0,75 mg/l Kinetin	20	4,100	BCDE
½ WPM + 0 mg/l Kinetin	20	4,050	CDE
½ WPM + 0,50 mg/l Kinetin	20	3,900	DE
½ MS + 0 mg/l Kinetin	20	3,900	DE
½ MS + 0,25 mg/l Kinetin	20	3,900	DE
½ WPM + 0,25 mg/l Kinetin	20	3,650	E
½ GD + 0 mg/l Kinetin	20	2,800	F

Catatan : huruf yg berbeda menunjukkan berbeda nyata pada taraf uji 5 %.

III. AKLIMATISASI KULTUR JARINGAN CENDANA



Plantlet cendana



Aklimatisasi tahap 1
(media pasir)



Bibit cendana siap tanam
umur 1 tahun



Aklimatisasi tahap 2
Top soil+ppk organik+arang sekam + pasir

IV. EMBRIOGENESIS SOMATIK

BAHAN DAN METODE

Tempat penelitian :

Laboratorium kultur jaringan B2PBPTH di Kaliurang, Yogyakarta

Sumber eksplan (daun) :

- A. Eksplan (daun) dari klon cendana hasil trubusan akar umur 3 tahun
- B. Eksplan (daun) hasil multiplikasi dari klon cendana umur 4 tahun



A



B

Media

Tahap induksi embryogenesis primer:

Penelitian ke-1:

MS + BAP 1 mg/l + NAA 0,01 mg/l + K 0,15 mg/l + gula 30 g/l (MSC)

Penelitian ke-2 :

MS + 0,5 mg/l 2,4 D + 0,15 mg/l K + sucrose 40 g/l (A); MS + 0,5 mg/l 2,4 D + 0,15 mg/l K + sucrose 40 g/l + air kelapa 100 ml (B); MS + 1 mg/l 2,4 D + 0,15 mg/l K + sucrose 40 g/l (C); MS + 1 mg/l 2,4 D + 0,15 mg/l K + sucrose 40 g/l + air kelapa 100 ml (D)

Tahap Pendewasaan/embriosomatik sekunder (penelitian ke-1):

MS + 2,4D 0,25 mg/l + K 0,1 mg/l+ sucrose 40 g/l (CND), MS + K 0,1 mg/l + Sucrosa 40 g/l (CND1); MS + Sucrosa 40 g/l (CND2).

Tahap perkecambahan/pembentukan plantlet (penelitian ke-1):

MS + BAP 1 mg/l + NAA 0,01 mg/l + K 0,15 mg/l.

Tahap perakaran (penelitian ke-1):

GD + 20 mg/l IBA + IAA 0,1 mg/l + K 0,15 mg/l.

Parameter yang diamati mulai dari fase globular (pro-embrio) sampai terbentuknya fase torpedo :

Morfologis : warna, struktur embrio, ciri-ciri yg khas, dll

Sitologis : Identifikasi sel embriogenik menggunakan microscope

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Eksplan daun :

- Ukuran 0,5 - 1cm² (diiris terutama yg dekat dgn tulang daun)
- Krn pd tulang daun merupakan jaringan pembuluh (silem & floem) tempat lewat hara dan fotosintesa
- Pembuatan irisan ditujukan untuk memacu tulang daun merekah dan tumbuh kalus.
- Posisi daun dibalik agar tulang daun terbuka



Tahap induksi Embriogenesis primer:

Penelitian ke-1:

Tahap induksi embriosomatik primer (pro-embrio)

Pada tahap ini eksplan ditanam dalam media MS + BAP 1mg/l + NAA 0,01 mg/l + K 0,15 mg/l + Gula 30 g/l. Setelah diinkubasi selama 3 bulan dalam media MSC kalus globular mulai terbentuk

Media MS paling umum digunakan untuk kultur jaringan tanaman berkayu, karena media MS unsur2 dan senyawa2 nya lengkap, media dengan kandungan nitrat, kalium, dan amonium yg tinggi.

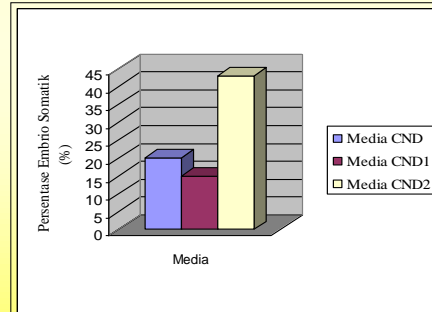
Penggunaan 2,4 D pada media MS tujuannya agar sel2 yang terdapat pada urat daun bereaksi sehingga terjadi dediferensiasi yg mengakibatkan terjadinya proliferasi untuk membentuk kalus. 2,4 D merupakan golongan herbisida sehingga penggunaannya harus sekecil mungkin.

Karbohidrat terutama sukrosa merupakan komponen yg hrs selalu ada, karena mengandung karbon yg terbaik dibanding glukosa, maltosa, dan rafinosa, glukosa juga berfungsi untuk mempertahankan tekanan osmotik media. Hsl penelitian yg sdh ada bahwa konsentrasi sukrosa 40 g/l lebih baik dibandingkan dengan konsentrasi 30 dan 20 g/l. Pembuktian di alam bahwa karbon yg diperoleh dr atmosfer dlm bentuk CO₂ menjadi komponen untuk fotosintesa

Pada tahap ini kondisi lingkungan (ruang gelap) : IC = 0; Suhu = 25°C; kelembaban = 67 %

B. Tahap induksi embriosomatik sekunder

Media	Kode	Persentase embrio somatik (%)
MS + 2,4D 0,25 mg/l + K 0,1 mg/l + sucrose 40 g/l	CND	20
MS + K 0,1 mg/l + sucrose 40 g/l	CND1	15
MS + sucrose 40 g/l	CND2	43



Tahap Pendewasaan (tahap pembentukan embriogenesis somatik sekunder) :

Penggunaan 2,4 D harus dikurangi, bahkan dihilangkan, kadang2 msh dibutuhkan sitokinin (kinetin) dengan konsentrasi sangat rendah

Hasil pengamatan morfologis : warna kuning kehijauan dan nampak terang (glossy) dari strukturnya tampak remah dan mudah tercerai-berai.

Pada tahap ini sudah terbentuk fase hati (heart)

Hasil sub-kultur ke-3 berikutnya tumbuh fase torpedo dan kalus embriogenik akan berkembang terus, untuk mencapai target produksi yg diinginkan sub-kultur bisa terus dilakukan

Kondisi rak inkubasi : IC = 150 lux; Suhu = 24-25°C, Kelembaban= 69-70 %



Tahap perkecambahan/penumbuhan plantlet :

Pada tahap ini semua bahan dipindah ke dalam media MSC

Pada fase ini struktur bi-polar sudah mulai terbentuk (meristem akar dan meristem tunas) , sedangkan sebagian besar membentuk tunas adventif. Terbentuknya tunas adventif ini kemungkinan kurang tepatnya penentuan jenis dan konsentrasi ZPT

Tahap Perakaran :

Pada tahap ini tunas2 adventif yang telah di sub-kultur pada media multiplikasi selanjutnya diakarkan dalam media GD + 20 mg/l + IAA 0,1 mg + K 0,15 mg/l keberhasilannya masih rendah

Kondisi lingkungan : IC = 1700-2000 lux; Suhu = 26°C; Kelembaban = 67 %



Tahap perkecambahan (a) dan (b) ; dan plantlet cendana yang terbentuk (c)

KESIMPULAN

1. Penggunaan eksplan bagian daun memberikan respon yang sangat baik, bahkan pada penelitian kedua yang menggunakan eksplan daun dari kebun pangkas diperoleh persentase daun yang berkalus sebesar 47 %.
2. Media MS + ZPT 2,4 D 1 mg/l + sucrosa 40 g/l memberikan respon terbaik dalam pembentukan kalus embrio-genik, bahkan semua tahapan embriogenesis somatik yg spesifik mulai dari induksi sel, kalus embrio-genik, fase globular, hati, sampai fase torpedo dapat dicapai dengan baik.
3. Pada tahap perkecambahan fase bipolar yang terbentuk (terbentuknya meristem akar dan meristem tunas) sangat rendah yaitu sebanyak 234 buah (4,43%), sebagian besar membentuk tunas adventif . Tunas adventif yang terbentuk dapat di sub-kultur lebih lanjut untuk dimultiplikasi dan tunas-tunas yang telah dewasa dapat digunakan sebagai materi untuk perakaran secara kultur jaringan dan teknik stek mini di rumah kaca.
4. Hasil penelitian dapat disimpulkan pula bahwa penggunaan media dasar GD + 20 mg/l IBA responnya masih rendah terhadap perakaran tunas cendana, dengan persen berakar sebesar 3 %.

