

MIKROPROPAGASI 12 EVENT TEBU PRG SoSUTI MENGGUNAKAN TUNAS PUCUK

Micropropagation 12 events GM Sugarcane SoSUTI Using Shoot buds

Anna Sofyana, Parawita Dewanti*, Bambang Sugiharto

Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember

Jln. Kalimantan 33, Jember 68121

*E-mail : parawita@yahoo.co.id

ABSTRACT

Sugarcane genetically modified products (GM) SoSUTI a genetically modified plant products obtained through the transformation of the gene into the cell SoSUTI sugarcane. Until now, GM sugarcane SoSUTI still very bit so the need for propagation. Conventional propagation takes a long time, more than 1 year and the amount of plants produced is also relatively small. Therefore, propagation methods are needed that can quickly produce large quantities of sugarcane. Propagation of GM sugarcane SoSUTI quickly in large quantities can be done by using the method of propagation through tissue culture or micropropagation. This research is aimed to obtain GM sugarcane SoSUTI in large quantities and quickly using shoot buds. Research was conducted at the Laboratory of Basic Biology Faculty of Science University of Jember and Development Laboratory Center of Advanced Science and Technology (CDAST) Jember University in January 2013 to March 2014. The results showed that not all events successfully grown in vitro. Six events were successfully grown in vitro are B1.1 event; B3.1; C1.1; C1.2; C2.1 and C2.3. Event is easy to regenerate is event C2.1

Keywords: *Micropropagation, shoot culture and GM sugarcane SoSUTI*

ABSTRAK

Tanaman tebu produk rekayasa genetika (PRG) SoSUTI merupakan tanaman produk rekayasa genetika yang didapatkan melalui transformasi gen SoSUTI ke dalam sel tanaman tebu. Sampai saat ini, tanaman tebu PRG SoSUTI masih sangat sedikit sehingga perlu adanya perbanyakan. Perbanyakan secara konvensional membutuhkan waktu yang lama, lebih dari 1 tahun dan jumlah tanaman yang dihasilkan juga relatif sedikit. Oleh karena itu, diperlukan metode perbanyakan secara cepat yang dapat menghasilkan tanaman tebu dalam jumlah banyak. Perbanyakan tanaman tebu PRG SoSUTI dalam jumlah banyak secara cepat dapat dilakukan dengan menggunakan metode perbanyakan melalui kultur jaringan atau mikropropagasi. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan tebu PRG SoSUTI dalam jumlah banyak dan cepat menggunakan tunas pucuk. Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Dasar Fakultas MIPA Universitas Jember dan Laboratorium *Center Development of Advanced Science and Technology* (CDAST) Universitas Jember pada bulan Januari 2013 sampai Maret 2014. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak semua event berhasil ditumbuhkan secara in vitro. Enam event yang berhasil tumbuh secara *in vitro* yaitu event B1.1 ; B3.1 ; C1.1 ; C1.2 ; C2.1 dan C2.3. Event yang mudah beregenerasi adalah event C2.1

Keywords: *Mikropropagasi, tunas pucuk dan tebu PRG SoSUTI*

How to cite: Sofyana, A., Parawita D., Bambang S., Mikropropagasi 12 Event Tebu PRG SoSUTI Menggunakan Tunas Pucuk. *Berkala Ilmiah Pertanian* 1(1): xx-xx

PENDAHULUAN

Tanaman tebu PRG gen SoSUTI merupakan tanaman produk rekayasa genetika yang didapatkan melalui transformasi gen SoSUTI ke dalam sel tanaman tebu. Hal ini bertujuan untuk mendapatkan tanaman tebu overekspresi gen SoSUTI yang diharapkan memiliki daya transport sukrosa tinggi sehingga akumulasi sukrosa di batang meningkat. Sampai saat ini, jumlah tanaman tebu PRG SoSUTI masih sangat sedikit sehingga perlu adanya perbanyakan. Perbanyakan secara konvensional membutuhkan waktu yang lama, kurang lebih 1 tahun dan jumlah tanaman yang dihasilkan juga relatif sedikit. Oleh karena itu, diperlukan metode perbanyakan secara cepat yang dapat menghasilkan tanaman tebu dalam jumlah banyak.

Perbanyakan tanaman tebu PRG SoSUTI dalam jumlah banyak secara cepat dapat dilakukan dengan menggunakan metode perbanyakan melalui kultur jaringan atau mikropropagasi. Kultur jaringan merupakan suatu teknik untuk mengisolasi sel, protolasma, jaringan dan organ, menumbuhkannya pada nutrisi yang mengandung zat pengatur tumbuh tanaman pada kondisi

aseptik sehingga bagian-bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman sempurna kembali (Galih, 2012). Prinsip utama dari teknik kultur jaringan perbanyakan tanaman melalui bagian vegetatif menggunakan media buatan dan dilaksanakan di tempat yang steril. Teknik kultur jaringan merupakan metode alternatif yang dapat digunakan pada perbanyakan tanaman tebu dalam menghasilkan bibit dalam jumlah besar dengan waktu yang relatif singkat, pertumbuhan seragam, bebas patogen, dan produksi bibit yang tidak tergantung musim (Behera and Sahoo, 2009).

Perbanyakan atau mikropropagasi tebu biasanya melalui pengkalusan. Dari 1 mata tunas atau meristem atau jaringan daun muda pada tanaman tebu setelah 1 – 2 bulan dapat terbentuk kalus dan 1 - 2 bulan berikutnya kalus dapat diregenerasi menghasilkan ± 20 tunas / anakan baru (Mariska dan Suci, 2011). Proses pengkalusan ini mengakibatkan adanya variasi somaklonal yang tidak dikehendaki dalam kultur jaringan sehingga dilakukan mikropropagasi kultur pucuk melalui tunas pucuk dan tunas samping. Kultur pucuk (shoot culture) adalah teknik mikropropagasi yang dilakukan dengan cara mengkulturkan

eksplan yang mengandung meristem pucuk dengan tujuan perangsangan dan perbanyak tunas-tunas/cabang-cabang aksilar. Tunas-tunas aksilar tersebut selanjutnya diperbanyak melalui prosedur yang sama seperti eksplan awal yang ditumbuhkan dalam kondisi *in vitro*. Penggunaan tunas pucuk dan tunas samping ini juga bertujuan untuk menghindari terjadinya dormansi tunas (*rest*) (Jakes, 2011) yang akan memperlambat perbanyak anakan. Mikropropagasi kultur pucuk ini mampu menghasilkan tanaman yang fenotifnya tidak berubah dari tanaman induknya. Selain itu, mikropropagasi kultur pucuk ini juga lebih cepat menghasilkan planlet baru dibandingkan melalui pengkalusan. Akan tetapi, mikropropagasi melalui kultur pucuk ini memiliki kelemahan, yaitu rawan kontaminasi cendawan dan tidak efisien dalam mendapatkan tunas pucuk. Satu *event* tanaman hanya terdapat 1 tunas pucuk.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biologi Dasar Fakultas MIPA Universitas Jember dan CDAST Universitas Jember mulai Januari 2013 sampai Maret 2014. Bahan – bahan yang digunakan adalah 12 *event* tebu PRG SoSUTI, media MS, ZPT (kinetin, GA3 dan BA), asam amino (*glycine*, glutamin), NaClO 5%, *aquadest*, sukrosa. Alat – alat yang digunakan adalah timbangan analitik, *magnetic stirrer*, pH meter, *microwave*, *autoclave*, *Laminar Air Flow (LAF)*, *buncen*, gelas ukur, botol kultur, petridish, *beaker glass*, *scalpel*, dan mikropipet.

Pelaksanaan penelitian

Pembuatan media tunas pucuk.

Media MS standart, BA 2 mgL⁻¹, kinetin 0,5 mgL⁻¹, glutamin 100 mgL⁻¹, dan vitamin 2 kali jumlah vitamin MS standart dicampur pada beaker glass, ditambah sukrosa dan *aquadest*, kemudian distirer dan diukur pH sebesar 6,2. Agar kultur jaringan dimasukkan, diaduk dan dipanaskan menggunakan *microwave* selama 1 menit. Diaduk kembali dan dipanaskan menggunakan *microwave* lagi selama 2 menit. Media siap dituangkan pada botol kultur. Proses penuangan media ke dalam botol kultur dilakukan secara langsung setelah pengovenan. Sterilisasi media menggunakan *autoclave* pada temperatur 121^oC, tekanan 15-17,5 psi dengan waktu 20 menit.

Pembuatan media tunas samping

Media MS standart, GA3 0,1 mg.L⁻¹, BA 1,5 mg.L⁻¹ dan glutamin 100 mg.L⁻¹ dicampur pada beaker glass, ditambah sukrosa dan *aquadest*, kemudian distirer dan diukur pH sebesar 6,2. Agar kultur jaringan dimasukkan, diaduk dan dipanaskan menggunakan *microwave* selama 1 menit. Diaduk kembali dan dipanaskan menggunakan *microwave* lagi selama 2 menit. Media siap dituangkan pada botol kultur. Proses penuangan media ke dalam botol kultur dilakukan secara langsung setelah pengovenan. Sterilisasi media menggunakan *autoclave* pada temperatur 121^oC, tekanan 15-17,5 psi dengan waktu antara 20 menit.

Sterilisasi laminar dan eksplan

Pucuk tebu PRG SoSUTI berumur 11 bulan yang telah diambil dari *green house* (terdiri dari tunas pucuk dan samping) disemprot alkohol 70% dan dibersihkan menggunakan tisu. Tunas samping yang diambil adalah tunas yang tertutup pelepah daun. Pengambilan tunas pucuk dilakukan di dalam laminar. Pengambilan tunas samping dilakukan dengan cara membuka pelepah daun, memotong daerah sekitar tunas, kemudian disemprot alkohol 70%. Eksplan yang akan dimasukkan ke dalam laminar disemprot alkohol 70% terlebih dahulu, kemudian

diletakkan pada petridish steril. Tunas pucuk diambil dengan cara melewatkannya pada api buncen 3 kali, kemudian membuka pelepah daun satu per satu sampai didapatkan tunas pucuk dengan panjang kira-kira 20 mm. Pengambilan mata tunas samping dilakukan dengan cara mengambil lapisan yang menutupi mata tunas menggunakan skalpel. Tunas samping disterilisasi menggunakan larutan klorok dengan pengenceran 1 : 3 (klorok : *aquadest* steril) selama 5 menit. Setelah itu, direndam pada *aquadest* steril selama 5 menit sebanyak 2 kali, ditiriskan pada petridish yang telah diisi dengan kertas saring steril hingga sisa *aquadest* yang menempel hilang.

Penanaman, perbanyak dan subkultur eksplan tanaman *in vitro*

Eksplan yang berupa tunas pucuk dan tunas samping ditanam pada media kultur di dalam laminar. Satu botol kultur diisi satu eksplan kemudian diletakkan pada rak kultur pada kondisi gelap selama 5 hari, kemudian dipindah pada kondisi terang. Eksplan yang telah tumbuh disubkultur pada media yang serupa dengan kriteria media tumbuh telah berwarna coklat akibat endapan fenol dan ada bagian-bagian dari eksplan yang telah berwarna coklat, kira-kira 2-3 minggu setelah kultur.

HASIL

Mikropropagasi merupakan salah satu cara perbanyak planlet secara cepat dan banyak melalui kultur jaringan. Melalui mikropropagasi ini, diharapkan adanya ketersediaan planlet dalam jumlah banyak untuk diskriming. Pada penelitian ini, terdapat 1 *event Wildtype* dan 12 *event* tebu PRG SoSUTI yang dijadikan eksplan, yaitu *event* A3 ; A4 ; B1.1 ; B3.1 ; B4.4 ; C1.1 ; C1.2 ; C2.1 ; C2.3 ; D1 ; D2 ; dan D3.

Keberhasilan dalam mikropropagasi tebu PRG SoSUTI merupakan salah satu faktor penting untuk masuk ke tahap skrining. Oleh karena itu, dalam tahap mikropropagasi, perlu adanya perawatan eksplan yang sangat hati-hati agar eksplan yang mampu tumbuh semaksimal mungkin. Berikut tabel hasil mikropropagasi tebu PRG SoSUTI dan *wildtype* :

TABEL 4.1 Hasil mikropropagasi tebu PRG SoSUTI dan *wildtype*

Event	JUMLAH TUNAS		TUNAS YANG AWAL MUNCUL TUMBUH TUNAS (HARI)			Σ TUNAS BARU YANG DIHASILKAN						
	Tunas Pucuk	Tunas Samping	Tunas Pucuk	Tunas Samping	Tunas Pucuk	Tunas Samping			Tunas Pucuk			
						1	2	3	1	2	3	
Wildtype	1	3	1	0	30	-	-	-	23	0	0	0
A3	1	2	0	0	-	-	-	-	0	0	0	0
A4	1	3	0	0	-	-	-	-	0	0	0	0
B1.1	1	4	0	3	-	95	102	106	0	19	23	13
B3.1	1	4	0	1	-	122	-	-	0	6	0	0
B4.4	1	2	0	0	-	-	-	-	0	0	0	0
C1.1	1	4	1	2	32	127	180	-	11	5	5	0
C1.2	1	4	0	1	-	86	-	-	0	1	0	0
C2.1	1	3	1	2	34	90	92	-	53	109	95	0
C2.3	1	2	0	1	-	122	-	-	0	3	0	0
D1	1	3	0	0	-	-	-	-	0	0	0	0
D2	1	2	0	0	-	-	-	-	0	0	0	0
D3	1	3	0	0	-	-	-	-	0	0	0	0

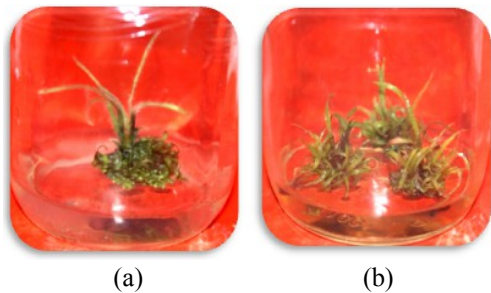
Tabel 4.1 menunjukkan bahwa dari ke-13 *event* yang ditumbuhkan pada media kultur jaringan, hanya 6 *event* dan 1 *wildtype* yang berhasil ditumbuhkan yaitu *event* B1.1 ; B3.1 ; C1.1 ; C1.2 ; C2.1 dan C2.3, sedangkan 6 *event* lainnya (A3 ; A4 ; B4.4 ; D1 ; D2 ; dan D3) mati. *Event* C1.1 (tunas pucuk) memiliki waktu awal muncul tunas baru paling cepat dibandingkan *event* tebu PRG lainnya, akan tetapi tunas sampingnya memiliki waktu awal muncul tunas baru paling lama. *Event* C1.2 memiliki waktu awal muncul tunas baru paling cepat pada tunas samping. Tabel 4.1 juga menunjukkan bahwa *event* C2.1 mempunyai jumlah tunas baru paling banyak pada saat tunas awal tumbuh, sedangkan *event* C1.2 mempunyai jumlah tunas baru paling sedikit.

PEMBAHASAN

Keberhasilan tahap mikropropagasi dalam penelitian ini dipengaruhi oleh ukuran eksplan. Eksplan yang berukuran kecil lebih sulit untuk tumbuh menjadi planlet baru karena cadangan makanan yang akan digunakan untuk proses perkembangan dan pertumbuhan awal sedikit. Eksplan belum bisa menyerap nutrisi yang tersedia di media sintetik dengan baik. Pada penelitian ini, ukuran eksplan kecil sehingga sulit tumbuh.

Tahap mikropropagasi ini masih tetap menghasilkan planlet dengan kondisi yang berbeda-beda pada masing-masing *event* meskipun ada kendala kontaminasi cendawan. Adanya perbedaan jumlah tunas yang dihasilkan pada masing-masing *event* menunjukkan bahwa eksplan yang digunakan memiliki tingkat juvenilitas dan meristematis sel yang berbeda satu dengan yang lainnya (Azwin *et al.*, 2006). Lambatnya proses pembentukan tunas pada eksplan diduga karena eksplan berasal dari bibit yang diambil dari *green house*, kemudian dilakukan sterilisasi dengan bahan sterilan. Hal ini menyebabkan eksplan tercekam akibat perlakuan mekanik sebelum inokulasi sehingga membutuhkan waktu untuk beradaptasi pada kondisi dan lingkungan yang baru. Selain itu, eksplan berasal dari *green house* yang awalnya pada lingkungan autotrof menjadi heterotrof sehingga perlu waktu adaptasi untuk dapat tumbuh pada lingkungan barunya.

Subkultur dilakukan beberapa kali pada tahap mikropropagasi menggunakan komposisi media tumbuh yang berbeda-beda. Pada saat tunas ditumbuhkan pada media MS0 dengan tambahan *glycine*, tunas tumbuh banyak, akan tetapi kondisinya remah dan tidak mampu tinggi atau mengalami stagnansi pertumbuhan, tampak pada gambar 4.1 :



GAMBAR 4.1 Plantlet yang mengalami stagnansi pertumbuhan : (a) Plantlet yang berasal dari tunas pucuk, (b) Plantlet yang berasal dari tunas samping.

Penambahan kinetin juga dapat menghambat pembesaran ukuran tunas karena dipacu bertunas secara terus-menerus sehingga tingginya lebih lama. Subkultur pada media MS0 tanpa ada penambahan ZPT maupun asam amino merupakan solusi atas permasalahan ini. Setelah beberapa minggu, planlet menunjukkan perubahan. Planlet yang awalnya mengalami stagnansi pertumbuhan mampu tumbuh dengan baik. Batang dan daun tampak hijau segar dan akarnya lebat. Ini menunjukkan bahwa hormon endogen yang terkandung di dalam planlet sudah cukup untuk memenuhi kebutuhan proses perkembangan dan pertumbuhannya sehingga dengan adanya penambahan hormon eksogen mengakibatkan terhambatnya proses perkembangan dan pertumbuhan planlet tersebut. Kebanyakan hormon endogen di planlet berada pada jaringan meristem yaitu jaringan yang aktif tumbuh seperti ujung-ujung tunas dan akar.

KESIMPULAN

1. *Event* yang berhasil tumbuh secara in vitro adalah *event* B1.1 ; B3.1 ; C1.1 ; C1.2 ; C2.1 dan C2.3.
2. Keberhasilan mikropropagasi dalam penelitian ini dipengaruhi oleh kondisi dan ukuran eksplan.
3. Adanya penambahan ZPT dapat menghambat pertumbuhan tunas.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada MP3EI yang telah mendanai penelitian ini tahun 2013 atas nama Prof. Dr. Bambang Sugiharto.

DAFTAR PUSTAKA

- Azwin, Iskandar z. Siregar, dan Supriyanto. 2006. Penggunaan BAP dan TDZ untuk perbanyak tanaman gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk.). *Media Konservasi* 11(3) : 98 – 104.
- Behera, K.K. and S. Sahoo. 2009. Rapid in vitro micropropagation of sugarcane (*Saccharum officinarum* L. cv- Nayana) through callus culture. *Nature Science* 7(4): 1- 10.
- Galih. 2012. Pengertian Kultur Jaringan Pada Tanaman. <http://galihsamson.blogspot.com>. [27 November 2012]
- Jakes. 2011. Cara Kultur Jaringan. <http://penyuluhthl.wordpress.com>. [27 November 2012]
- Mariska, E dan Suci Rahayu. 2011. Pengadaan bibit tebu melalui kultur jaringan. *Lipi E-Jurnal* No.3413 .