

PERTANIAN

INDUKSI SOMATIC EMBRIOGENESIS SECARA LANGSUNG DENGAN MODIFIKASI BAP DAN IAA PADA TANAMAN TEMBAKAU (*Nicotiana tabaccum L*) VARIETAS H-382

*Direct Somatic Embryogenesis Induction through Modification of BAP and IAA on Tobacco (*Nicotiana tabaccum L*) Variety H-382*

Putri Septiana Hargia Ningsih¹, Didik Pudji Restanto^{1*}, Slameto¹

¹Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember
Jalan Kalimantan 37, Kampus Tegal Boto, Jember 68121

*E-mail: restanto.lemlit@unj.ac.id

ABSTRACT

Somatic embryogenesis is one way of in vitro propagation of tobacco to produce the homogenous plant. This research used ZPT, BAP, IAA and the propagation combination of tobacco (*Nicotiana tabaccum L.*) of variety H-382 through somatic embryogenesis. The research aimed to determine the concentrations of IAA, BAA and their optimum combination for tobacco propagation. . The research was conducted at Plant Tissue Culture Laboratory, Agronomy Department, Faculty of Agriculture, University of Jember, from January 1th to June 30th, 2015. The research applied Factorial Completely Randomized Design with 2 factors. The first factor was BAP concentration (B) consisting of 4 levels i.e. B0 (control 0 ppm BAP), B1 (2.0 ppm BAP), B2 (2.5 ppm BAP), B3 (3.0 ppm BAP). The second factor was IAA (I) which consisted of 4 levels i.e. I0 (control 0 ppm IAA), I1 (0.1 ppm IAA), I2 (0.2 ppm IAA), I3 (0.3 ppm IAA). The results showed that the combination of treatments between BAP 3.0 ppm and IAA 0.2 ppm (B3I2) was the best treatment somatic embryogenesis induction and number of shoots and root length.

Keywords: In Vitro, Somatic embryogenesis, Tobacco (*Nicotiana tabaccum L.*)

ABSTRAK

Somatik embriogenesis adalah salah satu cara perbanyakan tanaman tembakau melalui in vitro untuk menghasilkan tanaman yang seragam. Penelitian ini menggunakan ZPT BAP, IAA dan kombinasinya perbanyakan tembakau (*Nicotiana tabaccum L.*) varietas H382 melalui jalur somatik embriogenesis. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui konsentrasi BAP, IAA dan kombinasinya yang optimal untuk perbanyakan tembakau varietas H382 melalui jalur somatik embriogenesis secara langsung dan menghasilkan planlet tembakau varietas H382 yang seragam. Penelitian ini akan dilaksanakan Laboratorium Kultur Jaringan, Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Jember pada bulan Desember 2014 sampai dengan bulan Januari 2015. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 2 faktor dengan 4 ulangan. Faktor pertama ialah aplikasi konsentrasi ZPT BAP yang terdiri atas 4 taraf yaitu B0 = BAP 0 ppm sebagai kontrol, B1 = BAP 2,0 ppm, B2 = BAP 2,5 ppm, dan B3 = BAP 3,0 ppm. Faktor kedua ialah aplikasi konsentrasi ZPT IAA yang terdiri atas 5 taraf yaitu I0 = IAA 0 ppm sebagai kontrol, I1 = IAA 0,1 ppm, I2 = IAA 0,2 ppm, I3 = IAA 0,3 ppm dan I4 = IAA 0,4 ppm dengan media agar MS. berdasarkan hasil perlakuan didapatkan perlakuan kombinasi antara BAP 3,0 ppm dan IAA 0,2 ppm (B3I2) adalah perlakuan terbaik untuk induksi somatik embriogenesis dan jumlah tunas serta panjang akar.

Kata kunci : : In Vitro, Somatik Embriogenesis, Tembakau (*Nicotiana tabaccum L.*)

How to cite: Ningsih PSH, DP Restanto, Slameto. 2015. Induksi Somatik Embriogenesis Secara Langsung dengan Modifikasi BAP dan IAA pada Tanaman Tembakau (*Nicotiana tabaccum L.*) Varietas H 382. *Berkala Ilmiah Pertanian* 1(1): xx-xx

PENDAHULUAN

Tembakau termasuk golongan tanaman semusim, dalam dunia pertanian tergolong dalam tanaman perkebunan. Tembakau diklasifikasikan sebagai famili *solanaceae* dan spesies *Nicotiana tabaccum L.* (Matnawi, 1997). Tembakau varietas H382 merupakan tembakau jenis NO (Na-oogst) cerutu besuki yang memiliki nilai ekonomis yang cukup tinggi (Dalmadyo, 2001).

Kultur jaringan adalah serangkaian kegiatan yang dilakukan untuk membuat bagian tanaman (akar, tunas, jaringan tumbuh tanaman) tumbuh menjadi tanaman utuh (sempurna) pada kondisi in vitro (di dalam gelas) (Marlina N, 2004). Kultur jaringan didasari oleh teori sel yang dikemukakan dua ahli biologi dari Jerman, MJ. Schleiden dan Schwann. Konsep embriogenesis somatik merupakan contoh terbaik dari konsep totipotensi sel, pertama kali diusulkan oleh Haberlandt (1902).

Embriogenesis somatik atau embriogenesis aseksual adalah proses ketika sel-sel soma berkembang menjadi embrio melalui tahap-tahap morfologi yang khas tanpa melalui fusi gamet (Utami dkk., 2000). Pembentukan embrio somatik secara langsung lebih disukai karena dapat menekan masalah sulitnya pembentukan benih somatik pada tahap perkecambahan (Rai dan McComb 2002). Tahap-tahap embriogenesis somatik menurut Bhojwani dan Razdan (1989) Pada tahap perkembangan, terdapat perbedaan antara tanaman dikotil dan monokotil. Pada tanaman dikotil, tahapan yang dapat teramati yaitu globular, jantung, hati, torpedo dan planlet. Sedangkan tanaman monokotil tahapan yang dapat teramati adalah globular, coleoptillar, dan scutellar. Keberhasilan regenerasi melalui somatik embriogenesis dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain formulasi media, formulasi zat pengatur tumbuh serta jenis eksplan yang digunakan (Sukmadjaja, 2005). Embrio somatik dapat digunakan sebagai biji buatan dengan cara pengapsulan (Toruan dan Sumaryono, 1994).

Pertumbuhan eksplan dipengaruhi oleh unsur hara dan zat pengatur tumbuh yang terdapat pada media tanam. Salah satu unsur hara yang paling penting adalah N yang banyak terdapat di dalam media MS (Jafari et al, 2011). IAA biasanya diberikan dengan konsentrasi yang relatif tinggi (1-30 mg/l). IAA memiliki sifat kimia lebih stabil dan mobilitas dalam tanaman rendah. (Matnawai, 1997). Dalam pembentukan kalus embrionik dan struktur embrio diperlukan konsentrasi auksin yang tinggi (Lestari, 2011). Sitokinin yang paling banyak digunakan adalah kinetin, dan Benzilaminopurin (BAP). BAP digunakan untuk pembentukan tunas pada perbanyakan pisang (Jafari et al, 2011). Tujuan dilakukannya penelitian adalah untuk mengetahui konsentrasi BAP, IAA dan kombinasinya yang optimal untuk memperbanyak tembakau varietas H382 melalui jalur somatik embriogenesis secara langsung dan menghasilkan planlet tembakau varietas H382 yang seragam

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman, Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian Universitas Jember. Penelitian dilakukan mulai bulan November 2014 – Januari 2015.

Persiapan Media

Media MS (Murashige and Skoog) diambil dengan pipet sesuai takaran dalam beaker gelas ditambah dengan sukrosa 30g/l dan 8 g/l. Penambahan hormon pada media disesuaikan dengan kebutuhan perlakuan. Sebelum media di autoklaf, pH media diatur antara 6,5 – 6,8 dengan menambah NaOH atau HCl. Selanjutnya di autoklaf selama kurang lebih 150 menit pada suhu 121°C tekanan 17,5 Psi.

Persiapan Pembibitan

Benih dari lapang disterilisasi menggunakan klorok 20% (*coercial bleach*) selama 20 menit sebanyak 5 kali lalu ditanam pada media MS 0, setelah tumbuh planlet tanaman yang sudah berumur sembilan minggu diambil daunnya sebagai eksplan.

Pelaksanaan Percobaan ”Induksi Somatic Embriogenesis secara Langsung dengan Modifikasi BAP dan IAA pada Tanaman Tembakau (*Nicotiana tabaccum L.*) Varietas H-382”

-Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 2 faktor dan diulang sebanyak 4 kali. Faktor pertama ialah aplikasi konsentrasi ZPT BAP yang terdiri atas 4 taraf yaitu B0 = BAP 0 ppm sebagai kontrol, B1 = BAP 2,0 ppm, B2 = BAP 2,5 ppm, dan B3 = BAP 3,0 ppm. Faktor kedua ialah aplikasi konsentrasi ZPT IAA yang terdiri atas 5 taraf yaitu I0 = IAA 0 ppm sebagai kontrol, I1 = IAA 0,1

ppm, I2 = IAA 0,2 ppm, I3 = IAA 0,3 ppm dan I4 = IAA 0,4 ppm dengan media agar MS.

Penanaman Eksplan

Penanaman eksplan daun tembakau dilakukan di dalam laminar air flow cabinet. Botol berisi media yang sudah disterilkan dibuka tutupnya. Proses ini dilakukan dengan menggunakan lampu bunsen sambil memutar mulut botol dengan titik tengah poros. Kemudian eksplan daun diambil dari botol kultur dipotong dengan ukuran 1 x 1 cm dalam cawan petri. Eksplan daun yang telah dipotong diambil dari cawan petri steril dan diletakkan pada media yang disiapkan sesuai perlakuan dengan menggunakan pinset, satu botol berisi 3 eksplan. Tutup botol dengan aluminium foil.

Pemeliharaan Tanaman

Pemeliharaan tanaman dilakukan dengan menjaga kondisi ruang inkubasi pada suhu 25-27° C. Pemeliharaan juga dilakukan dengan penyemprotan alkohol. Penyemprotan alkohol 70% dan formalin 4% dilakukan hampir setiap hari dengan tujuan untuk meminimalisir terjadinya kontaminasi.

Variabel Pengamatan

Pengamatan ada yang dilaksanakan setiap minggu dan dilaksanakan pada pengamatan terakhir. Variabel pengamatan diantaranya yaitu:

a) Tahapan Somatik embriogenesis

Eksplan daun yang telah tumbuh selama 2 minggu diamati menggunakan mikroskop stereo dalam cawan petri. Pengamatan tahapan somatik embriogenesis mulai dari tahap globular, hati, torpedo hingga kotiledon dilakukan dengan mengamati eksplan daun, lalu setelah terlihat tahapannya kemudian eksplan di foto.

b) Jumlah tunas

Dihitung secara manual berdasarkan jumlah tunas yang mulai tumbuh dari eksplan yang ditanam, tunas dihitung apabila sudah terbentuk minimal 2 daun dan diamati setiap satu minggu sekali sampai umur 8 minggu setelah tanam.

c) Tinggi tunas

Diukur secara manual menggunakan penggaris dan kertas milimeterscrub pada akhir percobaan. Pada minggu pertama hingga minggu ke-7 tunas diamati menggunakan penggaris dari atas media hingga tunas pucuk. Sedangkan diakhir percobaan tunas diambil dari media dalam laminar air flow di taruh dalam petri yang dibawahnya terdapat kertas milimeterscrub, kemudian diukur tingginya dari pangkal batang bagian bawah hingga pucuk tunas. Tunas terbentuk jika sudah muncul minimal dua daun dan diamati setiap satu minggu sekali sampai umur 8 minggu setelah tanam.

d) Panjang akar

Dihitung menggunakan kertas millimeterscrub setelah planlet sudah siap disubkulturkan. Tunas yang berakar diambil dan dibersihkan medianya lalu ditaruh dalam cawan petri yang dibawahnya sudah terdapat kertas milimeterscrub, kemudian diukur panjang akarnya dari pangkal akar hingga bawian bawah akar paling ujung.

HASIL

Berdasarkan percobaan yang telah dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan 16 perlakuan kombinasi di dapatkan hasil perhitungan nilai F-hitung, dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 1. Rekapitulasi F-Hitung Seluruh Variabel Pengamatan

No.	Variabel Pengamatan	Nilai F-Hitung		
		Konsentras i BAP (B)	Konsentras i IAA (I)	Interaksi (B) x (I)

1	Jumlah Tunas	2,43 ns	47,94 **	5,94 **
2	Tinggi Tunas	1,15 ns	133,26 **	7,69 **
3	Panjang Akar	7,36 **	95,44 **	9,75 **

Keterangan : ** berbeda sangat nyata; ns tidak berbeda nyata

Berdasarkan hasil sidik ragam dari tabel 1 di atas menunjukkan bahwa interaksi konsentrasi BAP dan IAA berpengaruh sangat nyata terhadap jumlah tunas, tinggi tunas dan panjang akar. Pengaruh konsentrasi IAA berbeda sangat nyata terhadap jumlah tunas, tinggi tunas, dan panjang akar. Sedangkan pengaruh konsentrasi BAP hanya berpengaruh sangat nyata pada engamatan panjang akar.

Tabel 2. Pengaruh Interaksi Konsentrasi BAP dan Konsentrasi IAA terhadap Panjang Akar

BAP	IAA			
	I0	I1	I2	I3
	0.00 D	0.00 C	0.00 A	0.00 B
B0	d	d	d	d
	29.25 D	23.35 C	23.71 A	30.25 B
B1	b	b	b	b
	32.55 D	22.45 C	35.05 A	30.01 B
B2	a	a	a	a
	0.00 D	25.07 C	36.02 A	26.77 B
B3	c	c	c	c

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf besar yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata sedangkan angka-angka yang diikuti huruf kecil yang sama pada baris yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji DMRT 5%.

Berdasarkan tabel 2 dapat diketahui bahwa panjang akar tembakau pada B0, B1, B2, dan B3 yang sama menunjukkan berbeda nyata dengan I0, I1, I2, dan I3. Perlakuan I0 dengan I1, I2 dan I3 masing-masing antara perlakuan berbeda sangat nyata. Sedangkan perlakuan B0 dengan B1, B2, dan B3 juga menunjukkan berbeda sangat nyata.

Berdasarkan tabel 2 diatas diketahui panjang akar tertinggi pada perlakuan B3I2 dengan rata-rata 36,02. Panjang akar kedua yaitu pada perlakuan B2I2 dengan rata-rata 35,05. Perlakuan panjang akar terendah pada perlakuan B0I0, B0I1, B0I2, dan B0I3 dengan rata-rata panjang akar 0,00.

Pengaruh Interaksi Konsentrasi BAP dan IAA terhadap Jumlah Tunas

Perlakuan interaksi konsentrasi BAP dan IAA berpengaruh sangat nyata terhadap jumlah tunas eksplan daun tembakau (Tabel 3).

Tabel 3. Pengaruh Interaksi Konsentrasi BAP dan Konsentrasi IAA terhadap Panjang Tunas

BAP	IAA			
	I0	I1	I2	I3
	0.00 C	0.00 C	0.00 C	0.0 C
B0	d	b	a	c
	17.00 A	16.00 A	13.00 A	15.00 A
B1	d	b	a	c
	17.00 A	13.00 A	15.00 A	13.00 A
B2	d	b	a	c
	1.00 B	18.00 B	22.00 B	14.00 B
B3	d	b	a	c

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf besar yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata sedangkan angka-angka yang diikuti huruf kecil yang sama pada baris yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji DMRT 5%.

Berdasarkan hasil penelitian pada tabel 3 yaitu dari rata-rata tinggi tunas dan hasil dari uji lanjut menggunakan Uji Jarak Berganda

Duncan (DMRT) 5 % dapat diketahui bahwa perlakuan konsentrasi B0 yang sama tidak berbeda nyata pada perlakuan I0, I1, I2 dan I3. Perlakuan B1 yang sama tidak berbeda nyata pada perlakuan I0, I1, I2 dan I3, sama dengan perlakuan B2 dan B3. Pada perlakuan B2 dan B3 yang sama tidak berbeda nyata pada perlakuan I0, I1, I2 dan I3.

Pada perlakuan I0 yang jumlah tunas sama tidak berbeda nyata pada perlakuan B1 dan B2 tetapi berbeda nyata pada perlakuan B0 dan B3. Jumlah tunas pada perlakuan I1 yang sama B1 dan B2 tidak berbeda nyata, tetapi pada I1 yang sama B0 berbeda nyata dengan B1 dan B3. Sama halnya dengan perlakuan I3 yang sama pada B1 dan B2 tidak berbeda nyata, sedangkan perlakuan B0 berbeda nyata dengan B1, B2, dan B3.

Berdasarkan interaksi pada pengamatan jumlah tunas, perlakuan terbaik pada B3I2 dengan jumlah tunas rata-rata 22,00. perlakuan terendah pada perlakuan B0I0, B0I1, B0I2, dan B0I3 dengan rata-rata panjang akar 0,00.

Pengaruh Interaksi Konsentrasi BAP dan IAA terhadap Tinggi Tunas

Perlakuan interaksi konsentrasi BAP dan IAA berpengaruh sangat nyata terhadap tinggi tunas eksplan daun tembakau (Tabel 4).

Tabel 4. Pengaruh Interaksi Konsentrasi BAP dan Konsentrasi IAA terhadap Tinggi Tunas

BAP	IAA			
	I0	I1	I2	I3
	0.00 D	0.00 D	0.00 D	0.00 D
B0	b	a	a	a
	19.30 A	16.70 A	17.00 A	19.70 A
B1	b	a	a	a
	18.80 C	15.20 C	14.90 C	12.40 C
B2	b	a	a	a
	6.10 B	18.30 B	20.00 B	18.90 B
B3	b	a	a	a

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf besar yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata sedangkan angka-angka yang diikuti huruf kecil yang sama pada baris yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji DMRT 5%.

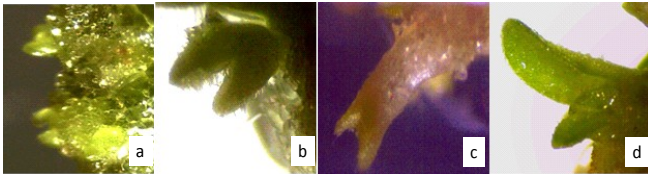
Berdasarkan hasil Tabel 4 dapat diketahui bahwa tinggi tunas pada perlakuan B0 yang sama menunjukkan hasil tidak berbeda nyata pada I0, I1, I2, dan I3. Sama halnya dengan B1, B2, dan B3 yang sama menunjukkan hasil tidak berbeda nyata pada I0, I1, I2, dan I3. Perlakuan I0 yang sama B0 berbeda nyata dengan B1, B2, dan B3.

berdasarkan tabel diatas pada perlakuan B3I2 menghasilkan tinggi eksplan tertinggi. Perlakuan ini menghasilkan rata-rata tinggi eksplan 5.00. Perlakuan BAP dengan konsentrasi 3,0 ppm dan IAA 0.2 ppm mampu mempercepat pemanjangan tunas. Tinggi eksplan yang tidak berbeda nyata dengan B3I2 adalah perlakuan BAP 2,0 ppm dan IAA 0,3 ppm (B1I3) dengan rerata tinggi eksplan 4,93 cm tertinggi kedua setelah perlakuan B3I2. Selanjutnya adalah perlakuan B1I0, B1I1, B1I2, B2I0, dan B3I3 juga menghasilkan hasil yang tidak berbeda nyata. Perlakuan yang menunjukkan tinggi eksplan terkecil adalah B0I0, B0I1, B0I2, dan B0I3 dengan rata-rata tinggi eksplan 0.00, tinggi eksplan terkecil kedua yakni pada perlakuan B3I0.

Tahapan-tahapan Somatik Embriogenesis



Gambar 1. Tahapan somatik embriogenesis pada perlakuan BAP 3,0 ppm dan IAA 0,2 ppm. (a) tahap grobuler; (b) hati; (c) torpedo; dan (d) planlet



Gambar 2. Tahapan somatik embriogenesis pada perlakuan BAP 2,5 ppm dan IAA 0,2 ppm. (a) tahap grobuler; (b) hati; (c) torpedo; dan (d) planlet

Gambar 1 dan 2 menunjukkan bahwa terdapat tahapan somatik embriogenesis dalam interaksi konsentrasi BAP dan IAA. Somatik embriogenesis yang baik dan terlihat tahapannya terjadi pada perlakuan BAP 2,5 ppm ditambah IAA 0,2 ppm (B2I2) dan BAP 3,0 ppm ditambah IAA 0,2 ppm (B3I2). Pada (Gambar 1 dan 2) adalah hasil dari tahap somatic embryogenesis yang terdiri dari tahap grobular, hati, torpedo dan kotiledon.

PEMBAHASAN

Dari hasil penanaman daun tembakau diperoleh dua perlakuan interaksi antara ZPT BAP dan IAA yang baik untuk pertumbuhan kearah somatic embriogenesis yakni perlakuan B2I2 dan B3I2. Menurut Sukmadjaja (2005) keberhasilan regenerasi melalui somatik embriogenesis dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain formulasi media, formulasi zat pengatur tumbuh serta jenis eksplan yang digunakan. Berdasarkan hasil penelitian pada gambar 2 dapat diketahui bahwa perlakuan B3I2 menghasilkan jumlah tunas terbanyak. Perlakuan ini menghasilkan rata-rata jumlah tunas 5.50. Keseimbangan antara auksin dan sitokinin mampu mengontrol pembentukan tunas akar dan kalus secara *in vitro* (Ali *et al.*, 2007). Oleh karena itu untuk mendapatkan hasil kultur jaringan tembakau yang optimal diperlukan kombinasi komposisi ZPT berupa hormone auksin dan sitokinin yang tepat (Ali *et al.*, 2007). Menurut George dan Sherrington (1989) 6-Benzilaminopurine (BAP) merupakan salah satu sitokinin sintetik yang aktif dan daya merangsangnya lebih lama karena tidak mudah dirombak oleh enzim dalam tanaman. Media MS juga sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan somatic embriogenesis karena media MS merupakan media yang banyak mengandung garam mineral dalam konsentrasi tinggi, juga mengandung unsur N yang tinggi dalam bentuk NO_3 dan NH_4 yang sangat dibutuhkan dalam perkembangan embrionik (Peirik, 1987).

Berdasarkan hasil penelitian pada Gambar 3 perlakuan konsentrasi BAP 3,0 ppm dengan IAA 0,2 ppm (B3I2) menghasilkan jumlah tunas terbanyak. Perlakuan ini menghasilkan rata-rata jumlah tunas 5,50. Windasari (2004) menambahkan, pengaruh sitokinin dalam kultur jaringan tanaman berhubungan dengan proliferasi tunas ketiak, selain itu proliferasi tunas aksilar hanya memerlukan sitokinin yang tinggi tanpa auksin atau auksin dalam konsentrasi yang sangat rendah. Penambahan BAP berpengaruh linier pada peningkatan jumlah tunas dan jumlah daun. Menurut Nisak *et al.* (2005) BAP berperan dalam pembelahan sel serta deferensiasi terbentuknya tunas. Namun, jika sitokinin (termasuk BAP) ditambah dengan auksin (termasuk IAA) maka sel akan mengalami pembelahan dan perkembangan terus menerus. Eksplan yang diinokulasikan pada medium dengan penambahan BAP tanpa IAA dapat menginduksi tunas. Hasil ini terlihat dari perlakuan B1I0, B2I0 dan B3I0, walaupun pada perlakuan B3I0 jumlah tunasnya sangat sedikit. Hal ini berkaitan dengan fungsi sitokinin yang menurut Maryani dan Zamroni, (2005) merupakan zat pengatur tumbuh yang berperan dalam pembelahan sel dan morfogenesis. Sedangkan pada eksplan yang diinokulasikan pada medium dengan kombinasi IAA dan BAP mampu menginduksi tunas. Pada perlakuan BAP 3,0 ppm dan IAA 0,3 ppm (B3I3) jumlah tunas berkurang dimungkinkan karena kelebihan konsentrasi ZPT.

Hoesen (1996) melaporkan bahwa penambahan sitokinin menginduksi pembentukan tunas secara nyata. Terlihat pada perlakuan B3I0 dan B3I3 yang jumlah tunasnya menurun. Pertumbuhan dan perkembangan eksplan sangat dipengaruhi oleh konsentrasi auksin dan sitokinin yang ditambahkan ke dalam media kultur jaringan (Matnawi, 1997).

Berdasarkan hasil penelitian pada Gambar 4 dapat diketahui bahwa perlakuan konsentrasi BAP 3,0 ppm dengan IAA 0,2 ppm (B3I2) menghasilkan tinggi tunas tertinggi. Menurut Wetherell dan Beyl dalam Maryani dan Zamroni (2005), selain pembelahan sel, sitokinin mampu menstimulasi pertumbuhan tunas dalam kultur *in vitro*. Perlakuan ini menghasilkan rata-rata tinggi eksplan 5.00. Perlakuan BAP dengan konsentrasi 3 ppm dan IAA 0.2 ppm mampu mempercepat pemanjangan tunas. Interaksi dari konsentrasi yang tepat antara perlakuan BAP dan IAA dapat meningkatkan tinggi tunas. Hal ini menunjukkan bahwa sitokinin (termasuk BAP) dan auksin (termasuk IAA) berperan saling melengkapi dalam menginduksi tunas (Maryani dan Zamroni, 2005). Perlakuan yang menunjukkan tinggi eksplan terkecil adalah B0I0, B0I1, B0I2, dan B0I3 dengan rata-rata tinggi eksplan 0.00. Semakin tinggi konsentrasi BAP dan IAA menyebabkan turunnya tinggi tunas contoh pada perlakuan B3I2 dan B3I3, terjadi penurunan tinggi tunas. Pada perlakuan BAP tanpa IAA dengan konsentrasi BAP yang tinggi juga menyebabkan penurunan pada tinggi tunas. Tingginya konsentrasi BAP menghambat pemanjangan tunas, karena dengan BAP yang tinggi akan meningkatkan jumlah tunas sehingga pengaruh pemanjangan tunas dihambat oleh pembentukan tunas baru (Amiputri dkk, 2003).

Berdasarkan hasil penelitian pada gambar 5 dapat diketahui bahwa panjang akar tertinggi terdapat pada perlakuan konsentrasi BAP 3,0 ppm dan IAA 0,2 ppm (B3I2). Perlakuan ini menghasilkan rata-rata panjang akar 9.01. Perlakuan yang menunjukkan panjang akar terkecil adalah B0I0, B0I1, B0I2, B0I3 dan B3I0 dengan rata-rata tinggi eksplan 0.00. Auksin berfungsi untuk memacu proses terbentuknya akar serta pertumbuhannya. Namun dalam konsentrasi auksin yang tinggi dapat menghambat pertumbuhan sel. Pemberian zat pengatur tumbuh sitokinin saja tidak dapat memicu pertumbuhan akar seperti yang terdapat pada perlakuan dengan konsentrasi BAP 3,0 ppm tanpa adanya auksin IAA. Dikarenakan sitokinin hanya dapat memunculkan pertumbuhan tunas. Tanpa adanya hormone endogen pada eksplan maka eksplan yang ditanam tidak dapat memunculkan pertumbuhan akar. Arimasetiowati dan Ardianti (2012) mengatakan bahwa penambahan auksin dengan konsentrasi tertentu tidak selalu meningkatkan pertumbuhan akar tetapi justru dapat menurunkan pertumbuhan akar. Zat pengatur tumbuh BAP mampu menekan pertumbuhan akar. Kemampuan menghambat pertumbuhan akar ini sangat penting dalam pengendalian tunas (Maryani dan Zamroni, 2005).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa kombinasi konsentrasi BAP dan IAA yang baik adalah perlakuan kombinasi antara BAP 3,0 ppm dan IAA 0,2 ppm (B3I2) dalam induksi somatik embriogenesis. Hal ini ditunjukkan dari morfologi somatik embriogenesis yang terdapat 4 tahapan yakni tahapan grobular, hati, torpedo dan planlet. Pada perlakuan tersebut juga menunjukkan hasil terbaik untuk parameter jumlah tunas, tinggi tunas, dan panjang akar.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada PT. TTN yang telah memberikan benih tembakau varietas H382 sebagai pembenihan untuk pertumbuhan eksplan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali G, F Hadi, Z Ali, M Tariq, MA Khan. 2007. Callus Induction and in vitro Complete Plant Regeneration of Different Cultivars of Tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) on Media of Different Hormonal Concentration. *Biotechnology*, 6(4):561-566
- Arimasetiowati R, F Ardiyanti. 2012. Pengaruh Penambahan Auxin terhadap Pertunasan dan Perakaran Kopi Arabika Perbanyak Somatik Embriogenesis. *Pelita Perkebunan* 28(2):82-90
- Armaniar. 2002. Induksi Kalus dan Embriogenesis Somatik Jati (*Tectona grandis* L.F) pada Media MS Modifikasi. (Tesis). Sumatra Utara. Program Pasca Sarjana Universitas Sumatra Utara.
- Arniputri RB, Praswanto, D Pumomo. 2003. Pengaruh Konsentrasi IAA dan BAP terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Tanaman Kunir Putih (*Kaempferia rotunda* L.) Secara *In Vitro*. *Agrosains* 5(2):48-51
- Bhojwani SS, MK Razdan. 1989. *Plant Tissue Culture Theory and Practise*. New York : Elsevier.
- Dalmadiyo G. 2001. *Peranaan dan Tantangan Tembakau Cerutu Besuki*. Malang : Balai Penelitian Tanaman Tembakau dan Serat (Ballittas).
- George EF, PD Sherrington. 1989. *Plant Propagation by Tissue Culture*. England : Exegetics Limited.
- Hoesen DSH. 1996. Pembentukan Tunas Kencur secara *In Vitro*. *Warta Tumbuhan Obat Indonesia*. 3(2):21-23
- Jafari N, RY Othman, N Khalid. 2011. Effect of benzylaminopurine (BAP) pulsing on *in vitro* shoot multiplication of *Musa acuminata* (banana) Cultivar Berangan. *African Journal of Biotechnology* 10(13):2446-2450.
- Lestari EG. 2011. Peranan Zat Pengatur Tumbuh dalam Perbanyak Tanaman melalui Kultur Jaringan. *Agrobiogen* 7(1):63-68
- Marlina N. 2004. Teknik modifikasi Media Murashige dan Skoog (MS) untuk Konservasi *In Vitro*. *Teknik Pertanian* 9(1):4-6
- Maryani, Zamroni. 2005. Penggandaan Tunas Krisan Melalui Kultur Jaringan. *Ilmu Pertanian* 12(1): 51-55
- Matnawi H. 1997. *Budidaya Tembakau Bawah Naungan*. Yogyakarta : Kasinus.
- Nisak K, T Nurhidayati, K I Purwani. 2012. Pengaruh Kombinasi konsentrasi ZPT NAA dan BAP pada Kultur Jaringan Tembakau *Nicotiana tabacum* varietas Prancak 95. *Sains Dan Seni Pomits* 1(1) : 1-6.
- Rai VR, J McComb. 2002. Direct somatic embryogenesis from mature embryos of sandalwood. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 69(2):65-70.
- Sukmadjaja D. 2005. Embriogenesis Somatik Langsung pada Tanaman Cendana. *Bioteknologi Pertanian*, 10(1):1-6
- Utami ESW, I. Sumardi, Taryono, E Semiarti. 2000. Pengaruh a-Naphtaleneacetic acid (NAA) terhadap embriogenesis somatik anggrek bulan *Phalaenopsis amabilis* L. BI. *Biodiversitas* 8(4):295-299.
- Toruan MN, Sumaryono. 1994. Pemanfaatan teknologi benih sintetis untuk perbanyak klonal secara massal. *Biotek Perkebunan* 1 (1) : 10-16
- Windasari A. 2004. Pengaruh Kombinasi Auksin dan Sitokinin pada Perbanyak Tanaman Krisan Pot (*Chrysanthemum morifolium*) Varietas Delano Red secara *In Vitro*. (Skripsi). Bogor. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor