

REGENETRASI EKSPLAN TOMAT (*Lycopersicon esculentum*) IN VITRO PADA MEDIA MS DENGAN KOMBINASI IAA DAN BAP

Parawita Dewanti*, Bernet Agung Saputra dan Bambang Sugiharto

*Fakultas Pertanian Universitas Jember

Jl. Kalimantan III/23 Jember

*Corresponding author: parawita@yahoo.co.id., 0812 346 3272

ABSTRACT

The study aims to determine the effect of explant types and combinations of plant growth regulators for callus induction and shoots on five varieties of tomatoes. Research using stem explants, cotyledon and hipokotil of five varieties of tomatoes (Emerald, Diamond, Rachael, Gems and Pendant) cultured on MS medium with combinations of concentrations of different growth regulators namely M1 (MS + IAA 0.2 ppm + 2 ppm BAP), M2 (MS + 0.5 ppm IAA + 2 ppm BAP) and M3 (MS + 1 ppm IAA + 2 ppm BAP). The results showed that the callus formed after 8-10 days, while the shoots after 18-24 days. Cotyledon explants cultured on media M1 (MS + IAA 0.2 ppm + 2 ppm BAP) produced the highest percentage of regeneration frequency (80%). Of the five varieties of tomatoes are used, Emerald varieties produce more shoots (4.80) followed by varieties Pendant (3.80) Ratna (3.27), Jewel (3.30) and Diamond (3.17).

Key words: IAA and BAP, the type of explant, Tomato (*Lycopersicon esculentum*)

PENGANTAR

Tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.) merupakan komoditas sayuran penting secara ekonomi, tanaman ini banyak dibudidayakan hampir di seluruh dunia termasuk Indonesia. Terdapat beberapa varietas unggul yang sesuai untuk dikembangkan di dataran rendah dengan hasil relatif cukup tinggi, di antaranya adalah varietas Intan, Ratna, Berlian, Mirah, Opal dan Zamrud (Duriat, 1999; Permadi *et al.*, 1999). Selain itu, ada beberapa varietas yang dihasilkan oleh perusahaan swasta seperti varietas Permata, Arthaloka, Idola dan Liontin. Untuk meningkatkan produksi dan kualitas tomat selain melalui teknologi budidaya dapat juga dilakukan melalui teknologi transformasi genetik. Oleh karena itu keberhasilan regenerasi secara *in vitro* pada tomat sangat diperlukan.

Regenerasi *in vitro* pada tomat sudah dilakukan tapi hasilnya masih bervariasi (Chaudhry *et al.*, 2004; Gubis *et al.*, 2004; Sheeja *et al.*, 2004; Gubis *et al.*, 2005). Keberhasilan kultur *in vitro* dan regenerasinya memegang peranan yang sangat penting untuk perbaikan genetik melalui bioteknologi seperti menghasilkan tanaman bebas virus dan transformasi genetik. Apabila sudah diperoleh sistem regenerasi tanaman yang bersifat efisien dan stabil, maka akan mempengaruhi keberhasilan transformasi genetik secara *in vitro*.

Dilaporkan bahwa regenerasi secara *in vitro* pada tomat dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti varietas (Gubis *et al.*, 2005), jenis eksplan (Chaudhry *et al.*, 2004; Gubis *et al.*, 2004), zat pengatur tumbuh (Plevnes *et al.*,

2006; Sheeja *et al.*, 2004) dan kondisi kultur (Plevnes *et al.*, 2006). Beberapa sumber eksplan tomat yang dapat digunakan adalah hipokotil (Chaudhry *et al.*, 2004; Gubis *et al.*, 2004; Gubis *et al.*, 2005), cotyledon (Gubis *et al.*, 2004; Gubis *et al.*, 2005), daun (Chaudhry *et al.*, 2004; Sheeja *et al.*, 2004;) dan tunas (meristem apikal).

Regenerasi secara *in vitro* sangat dipengaruhi oleh media yang mengandung zat pengatur tumbuh. Komposisi zat pengatur tumbuh pada media akan mempengaruhi regenerasi eksplan. Gubis *et al.*, 2005 dan Plevnes *et al.*, 2006 melaporkan bahwa kombinasi zat pengatur tumbuh akan mempengaruhi pembentukan tunas dan akar. Zat pengatur tumbuh zeatin 1,0mg/L dan 0,1mg/L IAA mampu beregenerasi sebanyak 90–92% dan menghasilkan tunas 0,18–0,38 tunas per eksplan (Gubis *et al.*, 2005).

Penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh jenis eksplan dan kombinasi zat pengatur tumbuh untuk induksi kalus dan tunas pada lima varietas tomat.

BAHAN DAN CARA KERJA

Benih tomat varietas Intan, Ratna, Zamrud, Liontin dan Permata diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Sayuran (BALITSA) Lembang. Benih dikecambahkan dengan cara merendam benih tomat dengan air hangat selama 5 menit. Benih disterilisasi dengan larutan Sodium Hipoklorit (Clorox) 5% selama 30 detik dan dibilas aquades steril 3 kali. Benih dikecambahkan dalam botol kultur yang berisi media MSo yang sudah dialasi kertas saring. Kultur disimpan selama 4 hari diruang gelap, kemudian 10 hari

diruang terang, dan diinkubasi pada kondisi 16 jam terang dan 8 jam gelap, dengan intensitas cahaya 1200 lux. Benih yang sudah berkecambah \pm 10–14 hari digunakan sebagai sumber eksplan.

Tunas, kotiledon dan hipokotil tomat dipotong dari bibit *in vitro*. Tunas dipotong dengan ukuran \pm 5 mm, kotiledon dipotong melintang di dua bagian yaitu ujung dan pangkalnya sehingga membentuk persegi panjang dengan ukuran \pm 5mm, hipokotil dipotong dengan ukuran \pm 5 mm. Eksplan kotiledon dan hipokotil ditanam horizontal pada permukaan medium. Regenerasi eksplan diinduksi pada media MS dengan penambahan konsentrasi BAP dan IAA yang berbeda. Perbedaan zat pengatur tumbuh yang digunakan untuk media regenerasi disajikan pada tabel 1.

Tabel 1. Perbedaan kombinasi zat pengatur tumbuh yang digunakan pada media regenerasi eksplan tomat.

		PP	M11	M22	M3
MS		+	+	+	+
Sucrose	(g.l ⁻¹)	30	30	30	30
Agar	(g.l ⁻¹)	11	11	11	11
IAA	(mg.l ⁻¹)	-	0.2	0.5	2
BAP	(mg.l ⁻¹)	-	2	2	2

Keterangan: MS: Murahige and Skoog, IAA: 3 indolylacetic acid, BAP: benzyl amino purin, P: media perkecambahan, M1,M2 dan M3: media perlakuan.

pH medium diatur 5,8 setelah ditambah zat pengatur tumbuh, kemudian media disterilkan pada 120° C selama 20 menit. Subkultur dilakukan setiap 2 minggu. Setelah 6 minggu, kemampuan regenerasi diamati. Parameter yang diamati adalah frekuensi regenerasi (%eksplan yang beregenerasi) dan jumlah tunas per eksplan. Analisis statistik dilakukan dengan menggunakan uji DUNCAN 5%.

HASIL

Hasil induksi kalus dan induksi tunas berbeda tergantung tipe eksplan dan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang ditambahkan. Induksi kalus diperoleh antara 8–10 hari, sedangkan induksi tunas antara 18–24 hari. Hasil induksi kalus dan induksi tunas tercepat adalah pada eksplan kotiledon yang ditanam pada media MS+0,2 ppm IAA+2 ppm BAP yaitu 8 hari dan 18 hari (Gambar 1).

Hasil regenerasi tunas adventif dari eksplan tunas, kotiledon dan hipokotil pada lima varietas tomat yaitu Zamrud, Intan, Ratna, Permata dan Lontin berbeda-beda tergantung jenis eksplan dan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang ditambahkan pada medium regenerasi (Tabel 2). Eksplan kotiledon yang ditanam pada media MS yang ditambah zat pengatur tumbuh 0,2ppm.

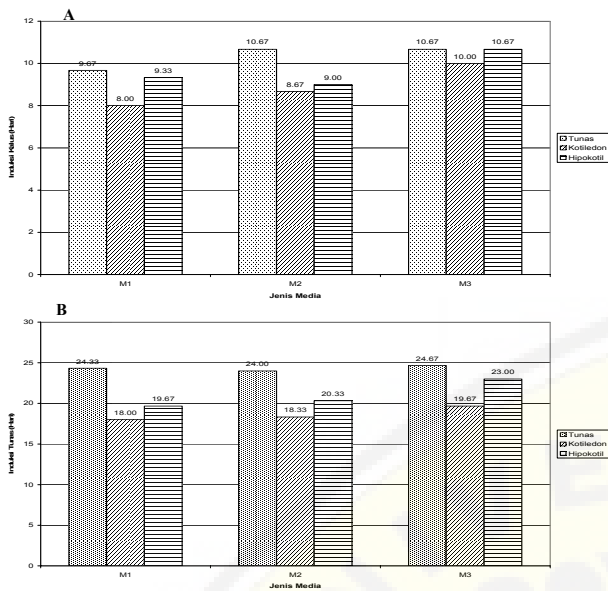
PEMBAHASAN

Respon multiplikasi pada perbanyakan *in vitro* sangat dipengaruhi oleh beberapa komponen media kultur yang berbeda, seperti komposisi zat pengatur tumbuh. Perbanyakan *in vitro* perlu dikaji agar diketahui bagaimana pengaruhnya terhadap tingkat regenerasi tanaman. Tomat merupakan salah satu tanaman yang banyak diteliti, karena tomat merupakan tanaman penting yang mempunyai keunggulan baik secara genetik, molekuler dan fisiologi.

Eksplan yang digunakan adalah tunas, kotiledon dan hipokotil yang diambil dari bibit tomat *in vitro*. Eksplan berasal dari lima varietas yaitu Zamrud, Intan, Ratna, Permata dan Lontin. Setiap botol kultur berisi media MS yang ditambah zat pengatur tumbuh sesuai perlakuan dan masing-masing ditanami 5 eksplan. Telah diketahui bahwa sumber eksplan terbaik adalah umur 8-14 hari (Dewanti *et al.*, 2009).

Tabel 2. Regenerasi tunas adventif dari beberapa eksplan dan varietas tomat pada medium MS dengan penambahan zat pengatur tumbuh. Data diambil setelah kultur umur 6 minggu.

Perlakuan	Jumlah Primordia Tunas				
	Zamrud	Intan	Ratna	Permata	Lontin
M1E1	2.60 ^{ef}	0.60 ^e	0.53 ^e	0.40 ^e	2.30 ^e
M1E2	4.80 ^a	3.17 ^a	3.27 ^a	3.30 ^a	3.80 ^a
M1E3	4.27 ^b	2.83 ^b	2.27 ^c	2.37 ^c	3.20 ^{bcd}
M2E1	2.03 ^g	0.37 ^g	0.43 ^e	0.23 ^e	1.97 ^f
M2E2	3.90 ^d	2.60 ^c	3.03 ^b	2.87 ^b	3.37 ^b
M2E3	3.00 ^e	2.17 ^d	1.93 ^d	2.23 ^d	3.07 ^d
M3E1	2.00 ^g	0.37 ^g	0.47 ^e	0.40 ^e	1.97 ^f
M3E2	4.42 ^{bc}	2.77 ^{bc}	2.97 ^b	2.90 ^b	3.33 ^{bc}
M3E3	2.20 ^f	2.13 ^d	2.00 ^d	2.27 ^d	3.17 ^{bcd}



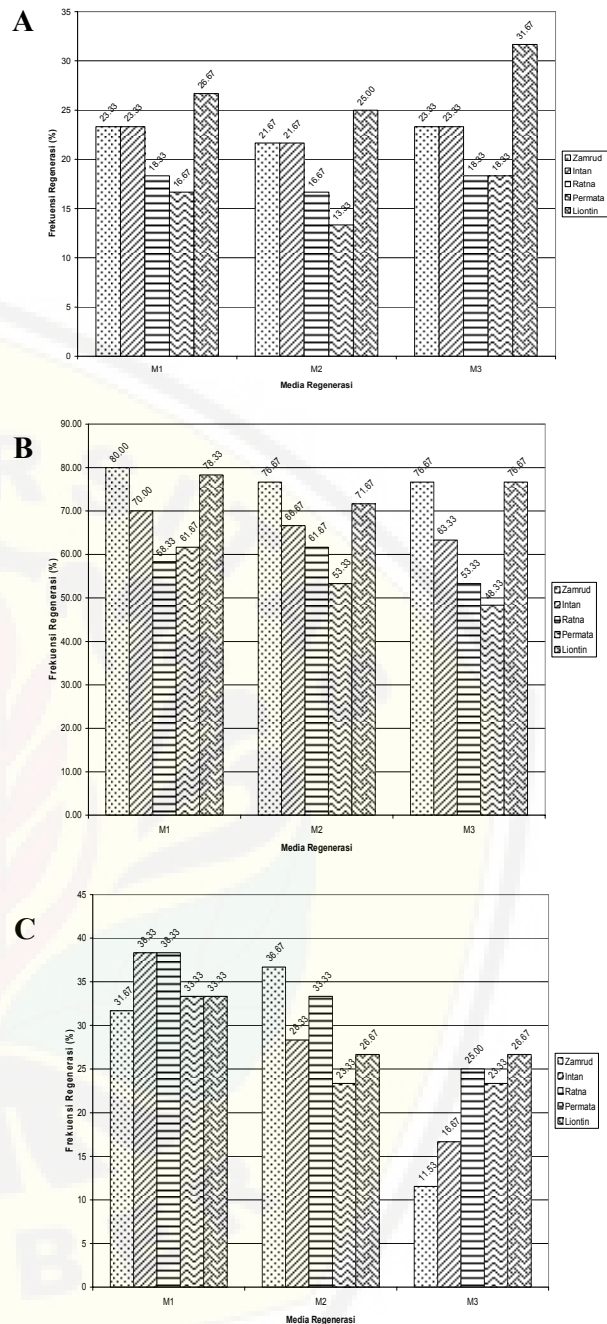
Gambar 1. Induksi kalus (A) dan induksi tunas (B) dari eksplan tunas, kotiledon dan hipokotil pada komposisi media regenerasi dengan komposisi zat pengatur tumbuh berbeda.

Hasil induksi kalus dan induksi tunas berbeda tergantung tipe eksplan dan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang ditambahkan. Induksi kalus diperoleh antara 8–10 hari, sedangkan induksi tunas antara 18–24 hari. Hasil induksi kalus dan induksi tunas tercepat adalah pada eksplan kotiledon yang ditanam pada media MS+0,2 ppm IAA+2 ppm BAP yaitu 8 hari dan 18 hari (Gambar 1).

Hasil regenerasi tunas adventif dari eksplan tunas, kotiledon dan hipokotil pada lima varietas tomat yaitu Zamrud, Intan, Ratna, Permata dan Liontin berbeda-beda tergantung jenis eksplan dan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang ditambahkan pada medium regenerasi (Tabel 2). Eksplan kotiledon yang ditanam pada media MS yang ditambah zat pengatur tumbuh 0,2 ppm.

IAA dan 2ppm BAP (M1) paling efektif menghasilkan tunas. Dari 5 varietas tomat yang digunakan, varietas Zamrud menghasilkan tunas paling banyak (4,80) diikuti varietas Liontin (3,80), Ratna (3,27), Permata (3,30) dan Intan (3,17) (Tabel 2).

Frekuensi regenerasi tunas adventif pada setiap varietas berbeda-beda, tergantung jenis eksplan dan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang ditambahkan pada medium regenerasi (Gambar 2). Eksplan tunas varietas Liontin yang diregenerasikan pada medium MS yang ditambah zat pengatur tumbuh 1ppm IAA dan 2ppm BAP paling efektif (31,67%) untuk induksi tunas (Gambar 2A). Eksplan kotiledon tomat varietas Zamrud, yang diregenerasikan pada media MS yang ditambah zat pengatur tumbuh 0,2 ppm IAA



Gambar 2. Frekuensi regenerasi dari eksplan tunas (a), kotiledon (b) dan hipokotil (c) tomat pada media MS dengan penambahan kombinasi zat pengatur tumbuh berbeda. Komposisi media tercantum pada bahan dan metode.

dan 2 ppm BAP paling efektif (80%) untuk induksi tunas (Gambar 2B). Pada eksplan hipokotil tomat varietas Intan dan Ratna yang diregenerasikan pada medium MS yang ditambah zat pengatur tumbuh 0,2ppm IAA dan 2 ppm BAP paling efektif untuk induksi tunas yaitu 38,33% (Gambar 2C). Gubis *et al.*, 2005 melaporkan bahwa pemberian

zeatin 1,0 mg/L dan 0,1 mg/L IAA pada eksplan hipokotil mampu beregenerasi sebanyak 90–92% dan menghasilkan tunas 0,18–0,38 tunas per eksplan. Pemberian IAA 2 mg/L dan 1mg/L BAP pada eksplan kotiledon hanya mampu menghasilkan kalus (Plevnes *et al.*, 2006).

Hasil penelitian dapat dilihat bahwa regenerasi eksplan kotiledon pada media MS yang ditambah 0,2 ppm IAA dan 2 ppm BAP cenderung memberikan jumlah primordia tunas tertinggi pada semua varietas (Tabel 2). Tipe eksplan dari masing-masing varietas menghasilkan frekuensi regenerasi yang berbeda, pemberian konsentrasi BAP lebih tinggi dibandingkan IAA cenderung menghasilkan frekuensi regenerasi lebih tinggi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa medium MS paling efisien untuk regenerasi tomat *in vitro*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kalus terbentuk setelah 8–10 hari, sedangkan tunas setelah 18–24 hari. Eksplan kotiledon yang dikulturkan pada Media M1 (MS+0,2 ppm IAA+2 ppm BAP) menghasilkan persentase frekuensi regenerasi tertinggi (80%). Dari 5 varietas tomat yang digunakan, varietas Zamrud menghasilkan tunas lebih banyak (4,80) diikuti varietas Liontin (3,80), Ratna (3,27), Permata (3,30) dan Intan (3,17).

KEPUSTAKAAN

Chaudhry Z, Darima H, Hamid R, and Asfari SQ, 2004. Regeneration from Various Explants of *in vitro* Seedling of

Tomato (*Lycopersicon esculentum* L.,c.v. Roma). Pakistan Journal of Biological Sciences 7(2): 269–272.

Dewanti PS, Waluyo BA, Saputra, and B Sugiharto, 2009. Regeneration *In Vitro* of Tomato (*Lycopersicon esculentum*) from Various Explants and Combination Growth Regulators. Seminar Internasional ICBS UGM. Yogyakarta.

Duriat AS, 1999. Teknologi Unggulan Balitsa Tawaran bagi Agribisnis Sayuran. Ekspo Teknologi bagi Pengembangan Agribisnis, Jakarta. Balai Penelitian Tanaman Sayuran, Lembang. Bandung.

Gubis J, Z Lajchova, J Farago, and Z Jurekova, 2004. Effect of growth regulators on shoot induction and plant regeneration in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.).

Gubis J, Z Lajchova, L Klcova and Z Jurecova, 2005. Influence of growth regulators on plant regeneration in tomato. Hort. Sci. 3: 118–122.

Permadi AH, D Djuariah, E Purwati, S Sahat, T Sumpena, dan Y Kusandriani, 1999. Varietas Unggul Sayuran. Ekspo Teknologi bagi Pengembangan Agribisnis, Jakarta. Balai Penelitian Tanaman Sayuran, Lembang, Bandung, Indonesia.

Plevnes DR, Danuta K, Marta G, Katarzyna K, and Jadwiga K, 2006. The Effect of Growth Regulators and Culture Conditions on the Callus Induction in Tomato (*Lycopersicon* Sp.). Acta Sci.Pol., Hortorum Cultus 5(2): 23–34.

Sheeja TE, AB Mondal, and RKS Rathore, 2004. Efficient Plantlet Regeneration in Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Plant Tissue Cult. 14(1): 45–53.