

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kacang tanah (*Arachis hipogea* L.) merupakan salah satu komoditas pertanian yang cukup penting. Komoditas kacang tanah diusahakan 70% di lahan kering dan hanya 30% di lahan sawah tadah hujan. Kacang tanah merupakan sumber protein nabati yang dapat diolah menjadi berbagai macam olahan bahan pangan. Permintaan kacang tanah dari tahun 1988 hingga 2010 mengalami peningkatan sebesar 1,45% per tahun (Hasanah *et al.*, 2004). Data BPS (Badan Pusat Statistik), menunjukkan bahwa produktivitas kacang tanah dari tahun 2008 sampai 2011 meningkat. Pada tahun 2008 produktivitas kacang tanah sebesar 12,15 Ku/Ha, pada tahun 2009 12,49 Ku/Ha, tahun 2010 12,56 Ku/Ha, dan pada tahun 2011 12,81 Ku/Ha. Selama tahun 2008 sampai 2011 rata-rata produktivitas kacang tanah hanya meningkat 22% dari empat tahun terakhir. Jumlah ini belum mampu memenuhi permintaan kacang tanah nasional sehingga mengakibatkan volume impor kacang meningkat. Untuk mengatasi hal tersebut perlu dikembangkan varietas yang tahan terhadap hama penyakit serta memiliki produktivitas yang tinggi melalui rekayasa genetika.

Kultur jaringan merupakan teknik yang mendukung penerapan metode rekayasa genetika. Menurut Rahayu dan Sudarsono (2009), tanaman kacang tanah hasil seleksi *in vitro* menghasilkan varian somaklonal kualitatif yang mengindikasikan adanya peluang mendapatkan tanaman yang lebih toleran atau sama tingkat toleransinya.

Varietas kacang tanah yang tahan hama dan penyakit akan sangat mungkin dihasilkan jika sudah diperoleh metode perbanyakan melalui kultur jaringan kacang tanah. Teknik kultur jaringan dapat dilakukan melalui jalur embriogenesis somatik. Penggunaan embrio somatik dapat mempercepat keberhasilan program pemuliaan tanaman melalui rekayasa genetika dengan peluang transformasi yang lebih tinggi. Hal ini disebabkan embrio somatik dapat berasal dari satu sel somatik. Embrio somatik juga dianggap bahan tanaman yang ideal untuk disimpan jangka pendek maupun jangka panjang karena bila diregenerasikan masih dapat membentuk bibit somatik (Purnamaningsih, 2002).

Induksi embrio somatik merupakan proses sel somatik (baik haploid maupun diploid) yang berkembang membentuk tumbuhan baru melalui tahap perkembangan embrio spesifik tanpa melalui fusi gamet. Struktur embrio somatik bipolar (mempunyai dua calon meristem, yaitu meristem akar dan meristem tunas). Struktur tersebut menyebabkan perbanyakan melalui induksi embrio somatik lebih menguntungkan dibandingkan pembentukan tunas adventif (unipolar). Secara spesifik tahap perkembangan embrio somatik dimulai dari fase globular, fase hati, fase torpedo, dan planlet (Gaj, 2001).

Menurut Edy (2009), penerapan metode rekayasa genetika memerlukan eksplan yang mampu membentuk tunas dan embrio somatik secara efisien sebagai target transformasi genetik. Oleh karena itu, teknik regenerasi embrio somatik (embriogenesis) harus dikembangkan sehingga diperoleh sistem regenerasi *in vitro* yang mantap baik untuk bahan transformasi genetik maupun untuk perbanyakan rutin varietas unggul.

Beberapa penelitian mengenai induksi embrio somatik kacang tanah sudah dilakukan, yaitu menggunakan eksplan benih kacang tanah yang belum matang (*immature*) (Ozias-Akins *et al.*, 1992), benih kacang tanah matang (*mature*) tanpa dikecambahkan (Chengalrayan *et al.*, 1995, Iqbal *et al.*, 2011 dan Cucco and Alberto 2000), dan benih yang dikecambahkan tiga hari (Sari, 2010).

Hasil penelitian Ozias-Akins *et al.* (1992) menunjukkan bahwa embrio somatik terbentuk dari kotiledon *immature* dan eksplan poros embrio. Penelitian Chengalrayan *et al.* (1995) menunjukkan embrio somatik terbentuk dari eksplan *leaflet* dari benih kacang tanah *mature*. Penelitian Iqbal *et al.* (2011) menunjukkan embrio somatik terbentuk pada eksplan kotiledon *mature*. Penelitian Cucco and Alberto (2000) menunjukkan bahwa penggunaan eksplan kotiledon yang disertai dengan *leaflet* dan embrio benih menghasilkan lebih banyak embrio somatik dibandingkan dengan eksplan kotiledon yang tanpa disertai dengan *leaflet* dan embrio benih. Pada penelitian Sari (2010), embrio somatik hanya terbentuk pada eksplan *leaflet* sedangkan eksplan radikula dan poros embrio tidak menghasilkan embrio sama sekali.

Berdasarkan latar belakang, maka dapat dirumuskan masalah, yaitu bagaimana respon empat bagian benih (kotiledon, *leaflet*, hipokotil, dan radikula) sebagai sumber eksplan dengan umur kecambah enam hari terhadap induksi embrio somatik?

1.2 Tujuan Penelitian

Berdasarkan identifikasi dan perumusan masalah, maka tujuan dari penelitian ini yaitu mengetahui respon berbagai bagian benih (kotiledon, *leaflet*, hipokotil, dan radikula) dengan umur kecambah enam hari sebagai sumber eksplan terhadap induksi embrio somatik.

1.3 Landasan Teori

Dalam rangka menyusun penjelasan teoritis terhadap pertanyaan yang telah dikemukakan, digunakan landasan teori sebagai berikut :

Kultur jaringan adalah metode untuk mengisolasi bagian tanaman seperti protoplasma sel, jaringan dan organ serta menumbuhkannya dalam kondisi aseptik sehingga bagian-bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman lengkap (Gunawan, 1988). Pembiakan kultur jaringan dapat dilakukan melalui jalur organogenesis dan embriogenesis somatik.

Jalur embriogenesis somatik banyak mendapat perhatian karena jumlah propagula yang dihasilkan tidak terbatas dan dapat diperoleh dalam waktu yang lebih singkat (Purnamaningsih, 2002). Keunggulan embriogenesis somatik yaitu jaringan meristem akar dan pucuk telah terbentuk pada saat embrio somatik masak (Jain,

1998 dalam Srilestari *et al.*, 2004), bentuk anatomi dan sifatnya serupa dengan embrio zigot benih biasa. Bibit yang diinginkan dengan mudah dapat dihasilkan hanya dengan mengecambahkan embrio yang masak tersebut. Apabila embrio somatik dapat dihasilkan melalui penginduksian kalus yang bersifat embriogenik, maka kalus tersebut dapat diperbanyak secara tidak terbatas dan dimasakkan setiap waktu (Merkle, 1995 dalam Srilestari *et al.*, 2004).

Rahayu dan Sudarsono (2009), dalam penelitiannya menumbuhkan embrio kacang tanah menjadi tanaman, menggunakan embrio somatik sekunder yang berumur satu bulan. Dalam prosesnya, kalus ditanam dalam media MS+P16 (MS dengan penambahan pikloram 16 μM) dan disubkultur setiap bulan selama enam bulan untuk menginduksi terjadinya variasi somaklonal. Kemudian kalus ditanam dalam media MS+P16 dan dilakukan subkultur setiap bulan, setelah tiga bulan embrio somatik diisolasi dan ditanam dalam media MS+P16 selama dua bulan agar terjadi proliferasi kemudian diregenerasikan menjadi tanaman dalam media MS dengan penambahan arang aktif. Subkultur dilakukan setiap bulan sampai embrio berkembang sempurna dan dikecambahkan dalam media MS yang ditambahkan BAP 22 μM sampai terbentuk tunas kemudian dilanjutkan ke media pengakaran dengan penambahan NAA 10 mg/l selama satu minggu, kemudian ditanam kembali dalam media MS dengan penambahan arang aktif sampai terbentuk akar yang sempurna. Terakhir dilakukan aklimatisasi dan dipindahkan ke media tanah.

Beberapa laporan regenerasi tanaman melalui induksi embriogenesis (Iqbal *et al.*, 2011; Cucco and Alberto 2000; Feng *et al.*, 1995; Ozias-Akins *et al.*, 1992), zat pengatur tumbuh yang umum digunakan adalah 2,4-D, NAA dan pikloram.

Menurut Edy (2008) eksplan *leaflet* embrio dalam media MS 0 tidak membentuk kalus embriogenik. Sedangkan eksplan dalam media dengan pikloram atau 2,4-D sebagian dapat berkembang membentuk kalus embriogenik. Menurut Ozias-Akins *et al.*, (1992) eksplan kotiledon beberapa genotipe kacang tanah menghasilkan embrio somatik setelah empat minggu dengan menggunakan media yang ditambahkan pikloram.

Faktor bahan tanaman yang turut menentukan keberhasilan kultur jaringan antara lain genotipe tanaman, umur eksplan, status fisiologi, ukuran eksplan dan sumber eksplan (Pierik, 1987). Pada proses pengecambahan pada sumber eksplan, masuknya air ke dalam sel akan mengaktifkan sejumlah enzim perkecambahan. Proses perkecambahan juga merupakan pengaktifan kembali aktivitas poros embrio (*embryonic axis*) yang terhenti, kemudian membentuk bibit (*seedling*) (Kamil, 1986).

1.4 Kerangka Pemikiran

Berdasarkan landasan teori yang telah dikemukakan, berikut ini disusun kerangka pemikiran untuk memberikan penjelasan teoritis terhadap perumusan masalah.

Kacang tanah merupakan salah satu komoditas pertanian yang penting di Indonesia, karena mengandung protein nabati. Permintaan kacang tanah terus meningkat seiring dengan semakin beragamnya produk olahan yang berbahan dasar kacang tanah. Namun demikian, produksi kacang tanah nasional cenderung menurun tiap tahunnya. Oleh karena itu, diperlukan penyediaan benih yang bermutu, yaitu dengan mengembangkan varietas yang resisten terhadap serangan

hama dan penyakit dengan metode rekayasa genetika. Kultur jaringan merupakan teknologi terapan yang mendukung rekayasa genetika dan dapat memperbanyak tanaman secara klonal dengan cepat. Menurut Pierik (1987), keuntungan lain dari teknik kultur jaringan tanaman adalah sebagai bahan tanam dan pelaksanaannya tidak tergantung pada musim.

Zat pengatur tumbuh jenis auksin perlu ditambahkan pada media MS untuk induksi embrio somatik. Hasil penelitian Edy (2008) menunjukkan eksplan *leaflet* dalam media MS 0 tidak membentuk kalus embrio somatik. Sebaliknya, eksplan dalam media pikloram atau 2,4-D sebagian dapat berkembang membentuk kalus embrio somatik. Penggunaan media MS dengan penambahan pikloram adalah yang paling efektif untuk menghasilkan embrio somatik, NAA merupakan ZPT kedua yang paling efektif untuk induksi embrio somatik dan pengakaran serta pengecambahan (Sellars *et al.*, 1990).

Menurut Edy (2008), tidak semua tipe eksplan dari bagian benih kacang tanah dapat membentuk kalus embriogenik. Tipe eksplan kotiledon tidak membentuk kalus embriogenik pada semua varietas. Kalus embriogenik hanya terbentuk pada eksplan *leaflet*, poros, dan radikula (kecuali pada varietas Sima dan Kancil) (Edy, 2008). Menurut Cucco and Alberto (2000), kotiledon yang digunakan sebagai sumber eksplan dengan mengikutsertakan bagian hipokotil, *leaflet*, dan radikula menghasilkan lebih banyak embrio somatik dibandingkan dengan eksplan kotiledon yang tanpa mengikutsertakan eksplan hipokotil, *leaflet*, dan radikula.

Hasil penelitian Sari (2010), pada kacang tanah dengan umur kecambah tiga hari, hanya bagian eksplan *leaflet*, yang membentuk kalus embriogenik, sedangkan eksplan poros dan radikula tidak membentuk kalus embrio. Sedangkan menurut Murthy dan Saxena (1994) *dalam* Edy (2009), jumlah embrio somatik dan persentase embrio somatik paling banyak dihasilkan pada kecambah muda (sampai 9 hari), sedangkan kecambah umur 21 hari gagal membentuk embrio somatik. Menurut Edy (2009), persentase kalus embriogenik yang dihasilkan oleh eksplan *leaflet* beberapa varietas kacang tanah lebih tinggi pada umur kecambah tiga dan enam hari dibandingkan dengan tanpa dilakukan perkecambahan sebelumnya.

Dengan demikian, penelitian ini dilakukan untuk melihat kemampuan masing-masing bagian benih sebagai sumber eksplan terhadap induksi embrio somatik, apakah setelah dilakukan pengecambahan selama enam hari seluruh bagian eksplan yang digunakan akan membentuk kalus embriogenik.

1.5 Hipotesis

Dari kerangka pemikiran yang telah dikemukakan, diajukan hipotesis bahwa terdapat perbedaan respon terhadap induksi embrio somatik dari berbagai bagian benih (sebagai sumber eksplan) dengan umur kecambah enam hari.