

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

4.1.1 Perkembangan Umum Kultur Pada Kultivar Jerapah dan Sima

Respon awal eksplan *leaflet* yang ditanam pada media MS dengan picloram 16 μM untuk konsentrasi sukrosa 10, 20, 30, dan 40 g/l, mulai tampak pada 2—3 minggu setelah tanam (mst). Respon awal berupa eksplan *leaflet* yang membesar pada 2 mst, kemudian mulai terbentuk kalus pada minggu ke-3 dan selanjutnya sebagian membentuk kalus embriogenik pada minggu ke-4. Sedangkan pada konsentrasi sukrosa 0 g/l pada kedua kultivar eksplan tidak berkembang dan tidak mengalami pertumbuhan untuk membentuk kalus (Gambar 1).



Gambar 1. Eksplan sampai berumur 12 mst dari kedua kultivar yang ditanam pada konsentrasi sukrosa 0 g/l, tidak berkembang.

Berbagai tipe kalus yang dihasilkan pada eksplan *leaflet* dari kedua kultivar yang ditanam dalam media dengan konsentrasi sukrosa 10, 20, 30 dan 40 gr/l adalah:

(1) membesar membentuk kalus embriogenik (ditandai dengan adanya tahap perkembangan embrio somatik); (2) membesar membentuk kalus non embriogenik; (3) membesar kecoklatan dan mati (Gambar 2).



(A)



(B)



(C)

Gambar 2. Perkembangan umum bentuk kalus pada kultur berumur 12 mst. (A) Eksplan yang membesar dan terjadi pembentukan kalus embriogenik (membentuk tahap-tahap embrio somatik pada daerah di dalam lingkaran). (B) membesar membentuk kalus nonembriogenik (tidak membentuk tahap-tahap embrio somatik); (C) membesar kecoklatan dan mati.

4.1.2 Bentuk Embrio Somatik Pada kultivar Jerapah dan Sima

Pada kedua kultivar, eksplan *leaflet* yang ditanam pada konsentrasi sukrosa 10, 20, 30, dan 40 g/l secara umum embrio somatik mulai terbentuk pada umur 4 - 6 mst. Terdapat perbedaan bentuk embrio antara kultivar Jerapah dan Sima. Pada kultivar Sima embrio somatik yang terbentuk terlihat kecil-kecil, bergerombol dan relatif lebih banyak di bandingkan kultivar Jerapah (relatif lebih besar dan sedikit) (Gambar 3).



(A)



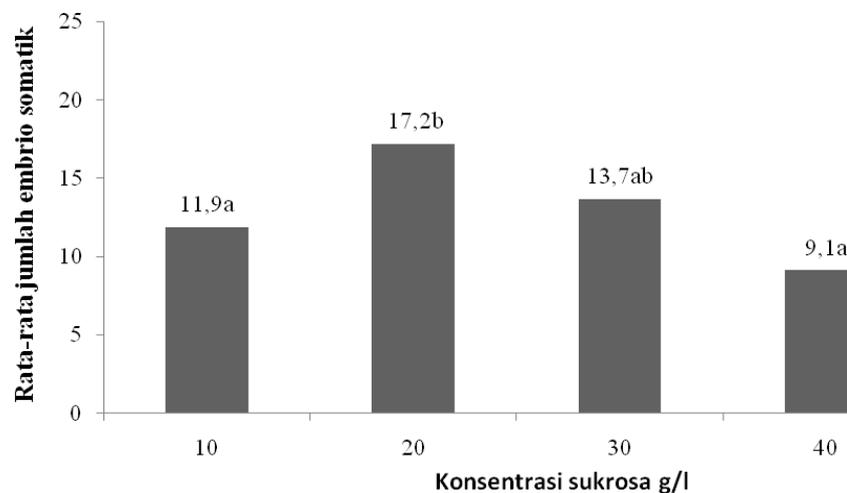
(B)

Gambar 3. Perbedaan bentuk embrio somatik yang terbentuk pada kedua kultivar kacang tanah, (A) Kultivar Sima membentuk embrio somatik yang terlihat lebih kecil, bergerombol, dan banyak. (B) Kultivar Jerapah membentuk embrio relatif yang lebih besar dengan jumlah lebih sedikit.

4.1.3 Rata-rata Jumlah Embrio Somatik dan Persentase Kalus Embriogenik pada Kultivar Jerapah

Rata-rata jumlah embrio somatik. Gambar 4 menunjukkan rata-rata jumlah embrio somatik (primer dan sekunder) yang terbentuk pada setiap eksplan *leaflet* dan dihitung saat kultur berumur 12 mst. Pada kultivar Jerapah menunjukkan

bahwa konsentrasi sukrosa berpengaruh terhadap rata-rata jumlah embrio somatik (Gambar 4).

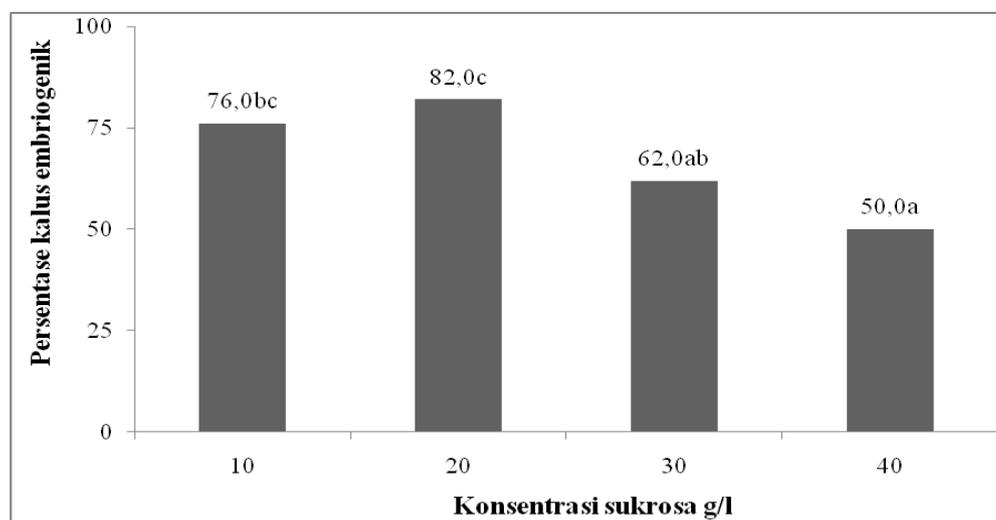


Gambar 4. Rata-rata jumlah embrio somatik per eksplan pada berbagai macam konsentrasi sukrosa (10, 20, 30, dan 40 g/l) untuk kultivar Jerapah. Pengamatan dilakukan saat kultur berumur 12 minggu setelah tanam. Perlakuan yang diikuti oleh huruf yang sama berarti tidak berbeda nyata pengaruhnya menurut BNT5% (5,06).

Berdasarkan uji BNT 5% (Gambar 4), rata-rata jumlah embrio somatik dari eksplan yang ditanam pada konsentrasi sukrosa 10 g/l lebih rendah dengan yang ditanam pada konsentrasi sukrosa 20 g/l, tetapi sama dengan eksplan yang ditanam pada konsentrasi sukrosa 30 dan 40 g/l. Pada konsentrasi sukrosa 20 g/l rata-rata jumlah embrio somatik sama dengan eksplan yang ditanam pada konsentrasi sukrosa 30 g/l, tetapi lebih tinggi dengan konsentrasi sukrosa 40 g/l. Sedangkan pada konsentrasi sukrosa 30 g/l dan 40 g/l peningkatan rata-rata jumlah embrio somatik sama. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan konsentrasi sukrosa 10-40 g/l tidak selalu meningkatkan rata-rata jumlah embrio somatik. Rata-rata jumlah embrio somatik pada konsentrasi 20 g/l sama dengan

30 g/l, penambahan konsentrasi sukrosa sampai 40 g/l menurunkan rata-rata jumlah embrio somatik.

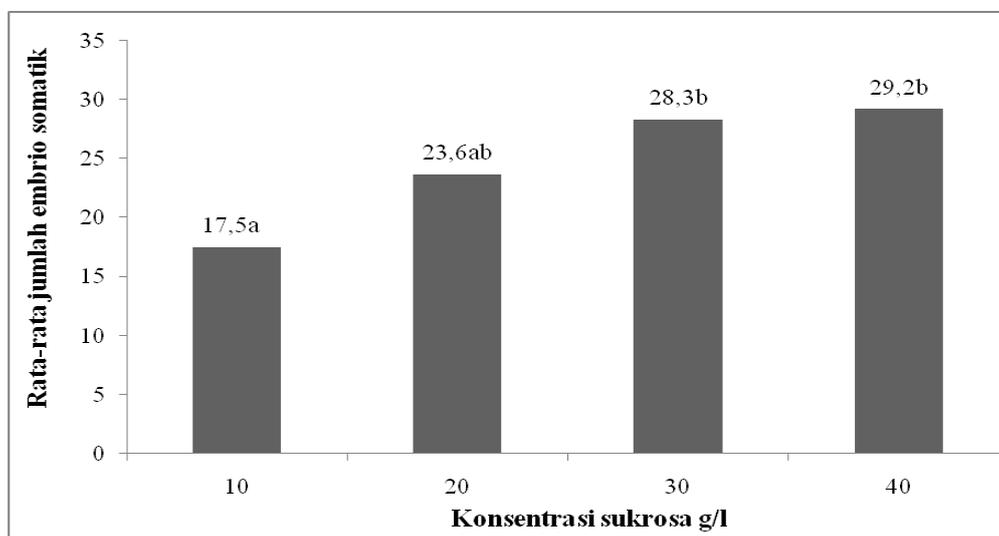
Persentase Kalus Embriogenik. Pada kultivar Jerapah, penambahan konsentrasi sukrosa 10—40 g/l berpengaruh terhadap persentase kalus embriogenik (Gambar 5). Selanjutnya berdasarkan uji BNT 5% (Gambar 5), penambahan konsentrasi sukrosa 10 g/l sama dengan konsentrasi 20 g/l. Penambahan konsentrasi 30 dan 40 g/l akan menurunkan persentase kalus embriogenik. Hasil ini menunjukkan penambahan konsentrasi sukrosa antara 10—40 g/l tidak selalu meningkatkan persentase kalus embriogenik. Konsentrasi sukrosa 20 g/l tertinggi dalam persentase kalus embriogenik, sedangkan penambahan sampai 40 g/l menurunkan persentase kalus embriogenik.



Gambar 5. Persentase kalus embriogenik pada berbagai macam konsentrasi sukrosa (10, 20, 30, dan 40 g/l) untuk kultivar Jerapah. Pengamatan dilakukan saat kultur berumur 12 minggu setelah tanam. Perlakuan yang diikuti oleh huruf yang sama berarti tidak berbeda nyata pengaruhnya menurut BNT5% (19,13).

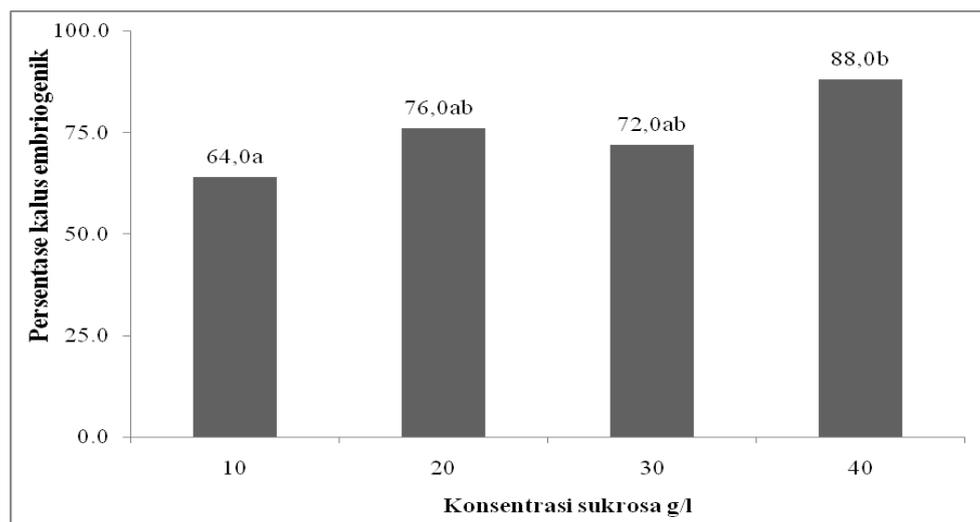
4.1.4 Rata-Rata Jumlah Embrio Somatik dan Persentase Kalus Embriogenik pada Kultivar Sima

Rata-rata jumlah embrio somatik. Berdasarkan uji BNT 5%, penambahan konsentrasi sukrosa 10 dan 20 g/l mempunyai rata-rata jumlah embrio somatik yang sama. Penambahan konsentrasi sukrosa 30 dan 40 g/l mempunyai rata-rata jumlah embrio somatik yang sama dengan konsentrasi sukrosa 20 g/l tetapi lebih tinggi dibandingkan konsentrasi sukrosa 10 g/l (Gambar 6).



Gambar 6. Rata-rata jumlah embrio somatik per eksplan pada berbagai macam konsentrasi sukrosa (10, 20, 30, dan 40 g/l) untuk kultivar Sima. Pengamatan dilakukan saat kultur berumur 12 minggu setelah tanam. Perlakuan yang diikuti oleh huruf yang sama berarti tidak berbeda nyata pengaruhnya menurut BNT 5% (0,99).

Persentase Kalus Embriogenik. Berdasarkan uji BNT 5%, penambahan konsentrasi sukrosa 10, 20, dan 30 g/l mempunyai persentase kalus embriogenik yang sama. Penambahan konsentrasi sukrosa 40 g/l mempunyai persentase kalus embriogenik yang lebih tinggi dengan konsentrasi sukrosa 10 g/l tetapi sama dengan 20 dan 30 g/l (Gambar 7).



Gambar 7. Persentase kalus embriogenik per eksplan pada berbagai macam konsentrasi sukrosa (10, 20, 30, dan 40 g/l) untuk kultivar Sima. Pengamatan dilakukan saat kultur berumur 12 minggu setelah tanam. Perlakuan yang diikuti oleh huruf yang sama berarti tidak berbeda nyata pengaruhnya menurut BNT 5% (21,41).

4.2 Pembahasan

Kultivar Jerapah dan Sima yang ditanam tanpa penambahan sukrosa (0 g/l) tidak berkembang membentuk kalus sehingga tidak terbentuk embrio somatik. Hal ini disebabkan eksplan yang ditanam tumbuh secara heterotrof sehingga tanpa penambahan sukrosa tidak akan cukup mensintesis kebutuhan karbonnya. (Hendaryono dan Wijayani, 2002). Dengan demikian, sukrosa harus ditambahkan ke dalam media. Penambahan sukrosa akan menyediakan energi bagi pertumbuhan eksplan dan juga sebagai bahan pembangun untuk memproduksi molekul yang lebih besar yang diperlukan untuk pertumbuhan. Umumnya sukrosa pada konsentrasi 1 – 5% digunakan sebagai sumber karbon. Disamping itu, ketika sukrosa diautoklaf akan terjadi hidrolisis untuk menghasilkan glukosa dan fruktosa yang dapat digunakan lebih efisien oleh eksplan dalam kultur. Sumber sukrosa dalam media juga dapat mempengaruhi proliferasi dan morfogenesis dalam kultur kalus (Eapen dan George, 1993).

Disamping sebagai sumber karbon keberadaan sukrosa di media akan berfungsi menimbulkan tekanan osmotik media. Menurut George dan Sherrington (1984), 4/5 bagian dari potensial osmotik dalam media *white* disebabkan oleh gula, sedangkan dalam media MS hanya setengah dari potensial osmotiknya disebabkan oleh gula. Pertumbuhan kalus *Nicotiana glutinosa* yang terbaik adalah bila potensial osmotiknya disebabkan adanya sukrosa. Keadaan demikian menyebabkan sel-sel pada jaringan eksplan yang ditumbuhkan pada media dengan penambahan sukrosa dapat lebih cepat menerima unsur-unsur hara yang diperlukan bagi perkembangan eksplan dalam induksi embrio somatik (Srilestari,

2005). Hasil penelitian Anzhagan dan Ganapathi (1999) *dalam* Purnamaningsih (2002) menunjukkan bahwa penambahan sukrosa kedalam media kultur dapat menghasilkan jumlah embrio somatik yang relatif banyak.

Perbedaan bentuk embrio somatik antara kultivar Jerapah dan Sima yang ditanam pada konsentrasi sukrosa 10, 20, 30, dan 40 g/l disebabkan karena kedua kultivar tersebut mempunyai daya regenerasi embrio somatik yang berbeda antar kultivar.

Zuyasna *et al.*, (2005) mengindikasikan bahwa sifat daya regenerasi embrio somatik dari eksplan daun embrio/*leaflet* tidak dipengaruhi oleh efek maternal dan sekaligus menunjukkan bahwa gen yang mengendalikan pembentukan embrio somatik merupakan gen inti. Hal ini memperkuat dugaan bahwa kemampuan pembentukan embrio somatik dari eksplan daun embrio (*leaflet*) kacang tanah dikendalikan oleh faktor genetik.

Di samping itu, hasil penelitian Edy *et al.*, (2008) pada semua kultivar kacang tanah yang dicoba, eksplan *leaflet* embrio yang ditanam dalam media MS0, tanpa penambahan 2,4-D tidak membentuk kalus embriogenik, eksplan yang ditanam pada media 2,4-D menghasilkan pertumbuhan kalus dan bentuk embrio yang relatif lebih besar dan relatif lebih mudah dipisahkan. Kultivar Sima mempunyai rata-rata jumlah embrio somatik per eksplan yang relatif lebih baik dibandingkan dengan kultivar lainnya. Dengan demikian, zat pengatur tumbuh juga mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis dalam kultur sel, jaringan, dan organ. Interaksi dan perimbangan antara zat pengatur tumbuh yang diberikan

dalam media dan diproduksi oleh sel secara endogen, menentukan arah perkembangan suatu kultur. Zat pengatur tumbuh Auksin dan Sitokinin digunakan secara luas dalam kultur jaringan untuk merangsang pertumbuhan kalus, suspensi sel dan organ. Salah satu jenis auksin yang digunakan adalah picloram (4-Amino-3,5,6,-Trichloro Picolinic Acid). Pengaruh auksin terhadap pertumbuhan jaringan tanaman diduga dengan menginduksi sekresi ion H^+ keluar sel melalui dinding sel. Pengasaman dinding sel menyebabkan K^+ diambil, dan pengambilan ini mengurangi potensial air dalam sel. akibatnya air masuk kedalam sel dan sel membesar (Gunawan, 1988).

Hasil pengamatan kultivar Jerapah, penambahan sukrosa yang lebih tinggi tidak meningkatkan rata-rata jumlah embrio somatik per eksplan dan persentase kalus embriogenik. Sedangkan untuk kultivar Sima penambahan sukrosa yang lebih tinggi akan meningkatkan rata-rata jumlah embrio somatik dan persentase kalus embriogenik. Sesuai dengan yang dikemukakan oleh George dan Sherrington (1984) bahwa penambahan sukrosa pada medium dapat meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan planlet. Namun pada batas tertentu dimana sel telah dalam keadaan jenuh maka penambahan sukrosa justru dapat menurunkan pertumbuhan dan perkembangan jaringan. Hal ini sejalan dengan penelitian Barg dan Umiel (1977) dalam George dan Sherrington (1984), konsentrasi sukrosa lebih tinggi menurunkan pertumbuhan dan morphogenesis kalus tembakau. Sedangkan untuk konsentrasi sukrosa terbaik dalam menghasilkan rata-rata jumlah embrio somatik 20 dan 30 g/l. Hal ini sejalan dengan beberapa penelitian induksi embrio somatik kacang tanah yang umumnya menggunakan konsentrasi

sukrosa 30 g/l Livingstone dan Birch (1996), Sulichantini (1998), Edy *et al.*, (2008). Namun demikian untuk jenis-jenis tanaman tertentu sunflower (*Helianthus annuus*), konsentrasi gula dapat lebih tinggi. Kalus embriogenik dicapai hanya pada media yang mengandung konsentrasi sukrosa 9 dan 12%.

Gula merupakan salah satu komponen organik yang harus diberikan ke dalam media tumbuh disamping sebagai sumber karbon, juga berguna untuk mempertahankan tekanan osmotik media. Oleh karena itu, penambahan sukrosa yang relatif tinggi dalam media kultur untuk tanaman tertentu justru akan menghambat pertumbuhan sel-sel somatik. Hal ini akibat tekanan osmotik yang terlalu tinggi, sehingga lebih lanjut dapat mengakibatkan kematian sel-sel akibat terjadinya lisis atau pecahnya dinding sel (Gandawidjaya, 1998).