

STIMULASI PERTUMBUHAN *IMMATURE-EMBRYO* CEMARA LAUT PADA BEBERAPA KONSENTRASI HARA MAKRO SECARA *IN VITRO*

Marlin dan Yulian Idris

Fakultas Pertanian Universitas Bengkulu

Jl. WR. Supratman Kandang Limun Bengkulu – 38371A E-mail: marlin_iin@yahoo.com

Abstrak

Cemara laut (*Casuarina equisetifolia*) merupakan tanaman dengan banyak manfaat (*multipurpose*). Sebagai tanaman hias, tanaman ini memiliki nilai ekonomi dan estetika yang tinggi. Penelitian ini ditujukan untuk mengembangkan teknologi penyelamatan embrio cemara laut melalui kultur *immature embryo* pada beberapa modifikasi hara makro secara *in vitro*. Penelitian dilakukan dengan rancangan acak lengkap dengan dua faktor. Faktor pertama adalah tingkat kematangan embrio yang terdiri dari 3 taraf. Tingkat kematangan embrio ditentukan berdasarkan tingkat kematangan buah, dengan mengamati warna buah buah, yaitu embrio muda yang belum matang-*young immature embryo* (dengan buah berwarna hijau), embrio hampir matang (dengan buah berwarna kuning kehijauan), serta embrio matang (dengan buah berwarna kuning kecoklatan). Faktor kedua adalah konsentrasi hara makro dari media MS (Murashige dan Skoog, 1962), terdiri dari 4 taraf yaitu $\frac{1}{4}$ media MS, $\frac{1}{2}$ media MS, full media MS, dan $1\frac{1}{2}$ media MS. Hasil pengamatan terhadap anatomi buah dan benih cemara laut menunjukkan bahwa embrio terletak dibagian basal benih yang dibungkus dengan selaput yang tipis. Embrio berukuran rerata 0.6 mm, berwarna kekuningan. Hasil kultur *in vitro* menunjukkan pertumbuhan terbaik *immature-embryo* terjadi pada media dengan konsentrasi $\frac{1}{2}$ hara makro media MS. Pada media ini, embrio mampu berkecambah dan membentuk tunas mikro (2,53 tunas/eksplan) dan akar (2,27 akar/eksplan dalam 6 minggu kultur. Embrio yang lebih matang, umumnya memiliki tingkat kontaminasi yang lebih tinggi dibandingkan *immature embryo*.

Kata Kunci : cemara laut, *immature embryo*, hara makro, *in vitro*

1. PENDAHULUAN

Cemara laut merupakan tanaman yang memiliki banyak keunggulan dan manfaat. Tanaman ini memiliki nilai ekonomi yang cukup tinggi sehingga upaya pengembangan tanaman ini sangat penting dilakukan. Cemara laut dapat dimanfaatkan sebagai tanaman hias dan menjadi elemen utama dalam konsep penataan taman *outdoor* maupun *indoor*. Selain itu, cemara laut juga dimanfaatkan sebagai tanaman bonsai. Cemara laut mempunyai kayu dengan kualitas tinggi untuk bahan bakar (arang), kayu gelondongan, dan berperan penting dalam konservasi tanah dan rehabilitasi lahan, serta sebagai penahan angin.

Umumnya tanaman cemara laut berkembang biak dengan cara generatif menggunakan biji. Biji terdapat di dalam buah yang berbentuk *cone*. Setiap buah memiliki 20-50 biji. Biji cemara laut sangat mudah diterbangkan oleh angin, sehingga mudah berpindah tempat satu ke tempat yang lain. Hal ini terjadi karena ukuran biji sangat kecil dan memiliki sayap yang tipis dan membungkus biji. Perkecambahan embrio di lingkungan alami hanya dapat terjadi pada kondisi yang menguntungkan, yaitu pada media yang lembab dan berpasir.

Faktor genetik dan lingkungan sangat mempengaruhi kemampuan benih untuk dapat berkecambah. Diantaranya adalah tingkat kemasakan biji. Pada biji yang belum matang (*immature seeds*), umumnya embrio belum tumbuh sempurna dan cadangan makanan dalam biji belum cukup untuk pertumbuhan embrio. Pengaruh lingkungan tumbuh sangat menentukan viabilitas atau daya kecambah biji cemara laut karena viabilitasnya sangat rendah dan mudah hilang (Nurahmah *et al.*, 2007). Menurut Eze dan Ahonsi (1993), persentase perkecambahan benih cemara laut hanya 7-16 % di lingkungan alami. Hal ini terjadi karena biji hanya memiliki cadangan makanan yang sedikit sehingga menghambat pertumbuhan dan perkecambahan embrio. Berbagai upaya perlu dilakukan untuk dapat menyelamatkan embrio yang terdapat pada biji cemara laut sebagai upaya untuk mempercepat penyediaan benih cemara laut yang berkualitas. Perbanyakan secara konvensional menunjukkan pertumbuhan benih yang masih rendah. Beberapa hasil penelitian dilakukan untuk memacu pertumbuhan benih di lapang. Muthukumar dan Udaiyan (2010) melaporkan bahwa pemberian bioinokulan *Glomus geosporum*, *Paenibacillus polymixa* dan *Frankia* secara individual atau dikombinasikan, memacu pertumbuhan benih, efisien dalam menyerap hara, dan memperbaiki kualitas benih cemara laut. Sedangkan Eze dan Ahonsi (1993), meneliti pemberian 0.1 mM GA₃ yang diikuti dengan 2500 mg.dm³ ascorbic acid dan 10 mM NaNO₃ dapat meningkatkan pertumbuhan kecambah. Tetapi, tingkat perkecambahan baru mencapai 62 %.

Salah satu alternatif usaha yang dapat dilakukan untuk menyelamatkan embrio cemara laut dan meningkatkan pertumbuhannya adalah melalui teknik kultur jaringan tanaman atau teknik *in vitro*. Dengan penggunaan teknik kultur jaringan, bahan tanam yang dihasilkan akan mempunyai tingkat multiplikasi yang tinggi, materi tanaman yang berkualitas, lebih homogen, secara genetik sama dengan induknya, dan dapat diperoleh dalam waktu yang relatif singkat (Bhojwani, 1990). Kebutuhan nutrisi dan zat pengatur tumbuh untuk memacu proses morfogenesis pada kultur *in vitro* akan berbeda untuk setiap jenis tanaman dan eksplan yang digunakan (Warreing dan Phillips, 1981). Regenerasi *Anthurium scherzerium* dilakukan dengan mereduksi hara makro menjadi ½ konsentrasi (Hamidah *et al.*, 1997). Kultur *immature seeds* menghasilkan pertumbuhan

terbaik pada tanaman *Rynchosyilis gigantea* (Lindl.) yang dikulturkan pada media MS dengan $\frac{1}{2}$ konsentrasi hara makro (Zhi-Ying dan Xu, 2009)

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan teknologi penyelamatan embrio cemara laut melalui kultur *in vitro* dengan memodifikasi konsentrasi hara makro di dalam media kultur.

II. METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan bulan Mei sampai dengan Agustus 2010 di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian Universitas Bengkulu. Penelitian dilakukan dengan rancangan acak lengkap dengan dua faktor. Faktor pertama adalah tingkat kematangan embrio yang terdiri dari 3 taraf perlakuan. Tingkat kematangan embrio ditentukan berdasarkan tingkat kematangan buah, dengan mengamati warna buah buah, yaitu embrio yang belum matang-*immature embryo* (dengan buah berwarna hijau), embrio hampir matang (dengan buah berwarna kuning kehijauan), serta embrio matang (dengan buah berwarna kuning kecoklatan). Faktor kedua adalah konsentrasi hara makro dari media MS (Murashige dan Skoog, 1962), terdiri dari 4 taraf yaitu $\frac{1}{4}$ hara MS, $\frac{1}{2}$ hara makro media MS, full hara makro media MS, dan $1\frac{1}{2}$ hara makro media MS. Dari kedua faktor tersebut terdapat 12 kombinasi perlakuan dengan 5 ulangan.

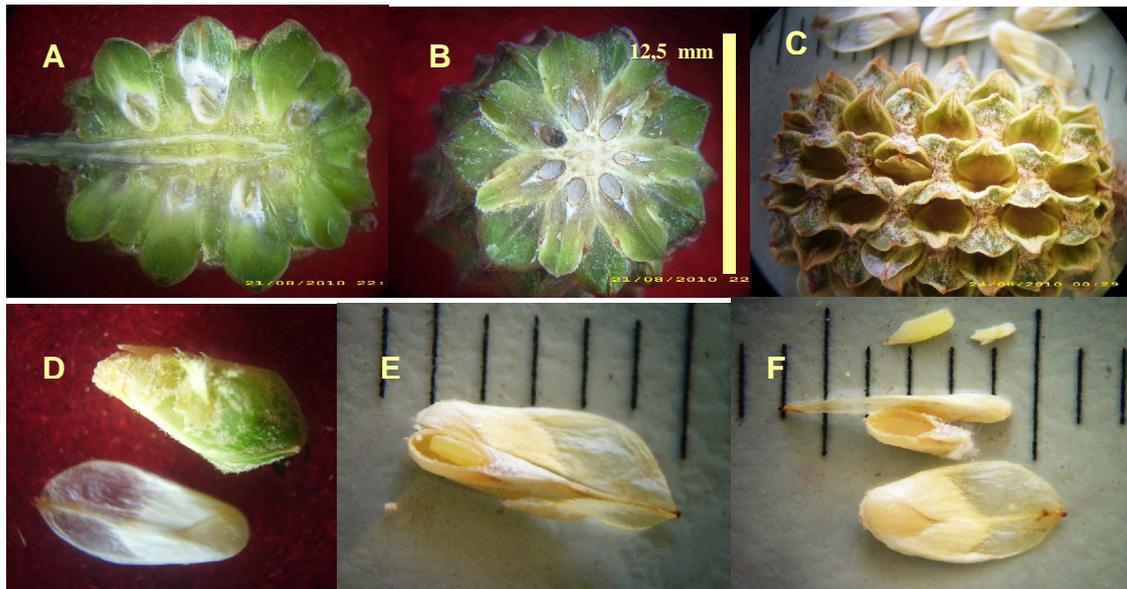
Penelitian dilakukan dengan menggunakan bahan tanam yang berupa embrio dari biji cemara laut. Biji cemara laut berasal dari tanaman induk yang terpilih dan berumur lebih dari 3 tahun. Penelitian dilakukan dengan menggunakan rancangan acak lengkap dengan 2 faktor. Faktor pertama adalah tingkat kematangan embrio yang terdiri dari 3 taraf. Tingkat kematangan embrio dipilih berdasarkan tingkat kematangan buah, dengan mengamati warna buah buah, yaitu embrio muda yang belum matang-*young immature embryo* (dengan buah berwarna hijau), embrio hampir matang (dengan buah berwarna kuning kehijauan), serta embrio matang (dengan buah berwarna kuning kecoklatan). Faktor kedua adalah komposisi media kultur. Media kultur yang digunakan adalah media MS (Murashige dan Skoog, 1962). Komposisi media terdiri dari 4 taraf, yaitu $\frac{1}{4}$ MS, $\frac{1}{2}$ MS, full MS, dan $1\frac{1}{2}$ MS.

Pembuatan media diawali dengan pembuatan larutan stok dengan kepekatan tertentu. Pembuatan media dilakukan dengan cara mengencerkan semua larutan stok sesuai perlakuan. Media ditambahkan sukrosa 30 g/L dan ditetapkan pada pH 5.8. Media dibuat dalam bentuk *solidified medium* dengan penambahan agar powder 7 g/L. Media dimasak sampai mendidih, dan dimasukkan ke dalam botol kultur dengan 20 mL media untuk masing-masing botol kultur. Sterilisasi media dilakukan dengan menggunakan autoclave pada suhu 121°C pada tekanan 15 psi selama 20 menit. Media diinkubasi di dalam ruang kultur selama 1 minggu. Penanaman eksplan dilakukan di dalam *laminar airflow cabinet*.

Pengamatan dilakukan terhadap persentase tumbuh embrio, saat tumbuh tunas mikro, jumlah tunas mikro, jumlah akar mikro, dan pengamatan terhadap morfologi benih dan embrio dengan menggunakan light microscope. Data hasil pengamatan dianalisis dengan analisis keragaman pada taraf 5%. Bila terdapat perbedaan yang nyata maka dilanjutkan dengan uji Duncant's Multiple Range Test pada taraf 5%.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Buah cemara laut memiliki rerata diameter 12,5 mm. Pada tiap buah terdapat ruang (*cone*) yang berisi 1 biji cemara. Ukuran biji sangat kecil, dengan rerata diameter 4,8 mm, dan rerata ketebalan 0,25 mm. Biji memiliki selaput tipis dan membungkus embrio cemara di dalamnya. Embrio tidak memiliki cadangan makanan sehingga vigor mudah hilang. Rerata panjang embrio 0,6 mm.



Gambar 1. Morfologi buah dan benih cemara laut. A) potongan membujur buah muda, B) potongan melintang buah muda, C) susunan cone yang berisi benih matang, D) benih cemara laut, E-F) bagian-bagian benih

Hasil pengamatan terhadap anatomi buah dan benih cemara laut menunjukkan bahwa embrio terletak di bagian basal biji yang dibungkus dengan selaput yang tipis. Cemara laut memiliki biji yang berkeping dua (*dicotyledonae*). Bagian dalam biji terdapat keping biji yang membungkus embrio, dengan ukuran ± 1.2 mm. Embrio berukuran rerata 0,6 mm, berwarna kekuningan. Kotiledon membuka saat biji berkecambah dengan tipe perkecambahan epigeal. Hasil analisis keragaman terhadap pengaruh umur embrio dan modifikasi konsentrasi hara makro terhadap peubah pengamatan disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengaruh umur embrio dan modifikasi konsentrasi hara makro terhadap pertumbuhan benih cemara laut secara *in vitro* (6 mst).

Peubah	F hitung		
	Embrio	Media	Interaksi
Persentase tumbuh embrio	9,44 ^{**}	8,70 ^{**}	1,76 ^{ns}
Saat tumbuh tunas mikro	2,00 ^{ns}	1,97 ^{ns}	0,47 ^{ns}
Jumlah tunas	9,80 ^{**}	8,92 ^{**}	1,04 ^{ns}
Jumlah akar	2,89 ^{ns}	10,78 ^{**}	0,77 ^{ns}

Keterangan : ^{**} = berbeda sangat nyata pada taraf 1 %
^{ns} = berbeda tidak nyata pada taraf 5 %

Hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa interaksi antara umur kematangan embrio dan modifikasi konsentrasi hara makro dalam media MS memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata terhadap semua peubah yang diamati. Perbedaan umur kematangan embrio memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata pada persentase tumbuh embrio dan jumlah tunas mikro, dan berpengaruh tidak nyata untuk peubah yang lainnya. Perbedaan konsentrasi hara makro dari media MS memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata pada semua peubah yang diamati, kecuali pada saat tumbuh tunas mikro. Hasil uji DMRT pada taraf 5 % terhadap peubah yang diamati disajikan pada Tabel 2 berikut.

Tabel 2. Pengaruh umur kematangan embrio terhadap persentase tumbuh embrio (PE) dan jumlah tunas mikro (JT) cemara laut secara *in vitro* (6 mst)

Perlakuan	PE	JT
<i>Young immature embryo</i> (E1)	11 c	0,80 b
<i>immature embryo</i> (E2)	28 a	2,25 a
<i>mature embryo</i> (E3)	20 b	1,40 b

Keterangan : Angka-angka yang diikuti huruf yang sama berbeda tidak nyata pada DMRT taraf 5 %.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa umur kematangan buah sangat mempengaruhi pertumbuhan embrio. Persentase tumbuh embrio terkecil terjadi pada buah yang belum matang. Pada buah hampir matang, embrio sudah memiliki energi yang cukup untuk tumbuh dan berkembang. Sedangkan pada buah yang telah matang persentase pertumbuhan embrio lebih rendah. Hal ini lebih disebabkan oleh adanya kontaminasi yang tinggi pada buah matang, sebagai akibat dari telah membukanya ruang (*cone*) buah. Hasil penelitian Prakash dan Gorumurthi (2010) menunjukkan pula bahwa pertumbuhan kotiledon dari benih yang belum matang memberikan frekuensi pertumbuhan callus yang paling tinggi pada media MS dengan penambahan 1 mg/L NAA.

Tabel 3. Pengaruh konsentrasi hara makro media MS pada persentase tumbuh embrio (PE), dan jumlah tunas mikro (JT) dan jumlah akar (JA) cemara laut secara *in vitro* (6 mst)

Perlakuan	PE	JT	JA
Konsentrasi ¼ MS	10,67 b	0,73 c	0,47 b
Konsentrasi ½ MS	30,67 a	2,53 a	2,27 a
Konsentrasi full MS	24,00 a	1,67 b	1,73 a
Konsentrasi 1½ MS	13,33 b	1,00 bc	0,93 b

Keterangan : Angka-angka yang diikuti huruf yang sama berbeda tidak nyata pada DMRT taraf 5 % .

Penentuan suatu jenis unsur hara makro pada konsentrasi yang tepat dan seimbang merupakan langkah yang paling penting dalam menentukan keberhasilan kultur tanaman (George dan Sherrington, 1984). Hasil penelitian menunjukkan bahwa respon terbaik diperoleh pada media dengan konsentrasi hara makro ½ MS. Pada media ini diperoleh respon tertinggi untuk persentase tumbuh embrio (30,67%), jumlah tunas

(2,53 tunas/eksplan), dan jumlah akar (2,27 akar/eksplan). Respon terendah diperoleh pada media dengan konsentrasi $\frac{1}{4}$ MS. Kasi dan Sunaryono (2006) berhasil mengkulturkan somatic embryo sagu pada media dengan konsentrasi hara makro $\frac{1}{2}$ MS dengan penambahan 0,01 mg/L ABA. Sedangkan Marlin (2003) melaporkan bahwa konsentrasi optimum 83.5 % hara makro MS diperlukan untuk membentuk rimpang mikro jahe tercepat (12,5 hst), tetapi konsentrasi hara makro $\frac{1}{4}$ MS menghasilkan berat basah rimpang tertinggi.

IV. Simpulan dan Saran

Upaya penyelamatan embrio cemara laut dapat dilakukan melalui kultur *immature embryo* secara *in vitro*. Pertumbuhan terbaik *immature-embryo* diperoleh pada media dengan konsentrasi $\frac{1}{2}$ hara makro media MS. Pada media $\frac{1}{2}$ MS diperoleh respon tertinggi terhadap peubah persentase tumbuh (30,67%), jumlah tunas (2,53 tunas/eksplan), dan jumlah akar (2,27 akar/eksplan). Embrio yang berasal dari buah yang hampir matang memiliki persentase tumbuh dan jumlah tunas tertinggi dibandingkan perlakuan umur embrio yang lain. Embrio yang lebih matang, umumnya memiliki tingkat kontaminasi yang lebih tinggi dibandingkan *immature embryo*.

Perlu dilakukan penelitian selanjutnya untuk mengevaluasi perkecambahan dan pertumbuhan *immature embryo* pada berbagai jenis media kultur.

DAFTAR PUSTAKA

- Bhojwani, S.S. (ed.). 1990. Plant Tissue Culture : Applications and Limitations. Elsevier. Amsterdam.
- Eze, J.M.O., and M.O. Ahonsi. 1993. Improved germination of the seeds of whistling pine (*Casuarina equisetifolia*) forst and forst (*Cassuarinaceae*) by various presowing treatments. J. Agronomie 10: 13 (889-894).
- George, E.F. and P.D. Sherrington, 1984. Plant Propagation by Tissue Culture. Handbook and Directionary of Commersial Laboratories. Exegetic Ltd. England.
- Hamidah, M., A.G.A. Karim, and P. Debergh. 1997. Somatic embryogenesis and plant regeneration in *Anthurium scherzerianum*). Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 49: 23-27.
- Kasi, P.D., dan Sumaryono. 2006. Keragaman morfologi selama perkembangan embrio somatik sagu (*Metroxylon sagu* Rottb.). Menara Perkebunan. 74(1): 44-52.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15:473-497.
- Muthukumar, T., and Udaiyan, K. 2010. Growth response and nutrient utilization of *Casuarina equisetifolia* seedlings inoculated with bioinoculant under tropical

nursery conditions. <http://www.springerlink.com/content/7806261tp22m445k/>.
Didownload 13 Maret 2010.

Nurahmah, Y., M.Y. Mile, dan E. Suhaendah. 2007. Teknis perbanyakan cemara laut (*Casuarina equisetifolia*) pada media pasir. Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan.

Prakash, M. G. and K. Gurumurthi. 2010. Effects of type of explant and age, plant growth regulators and medium strength on somatic embryogenesis and plant regeneration in *Eucalyptus camaldulensis*. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 100:13–20

Wareing, P.F. and I.D.J. Phillips. 1981. *Growth and differentiation in Plants*. Pergamon Press 3rd Ed.

Zhi-Ying, L., and Xu, L. 2009. *In vitro* propagation of White-flower mutan of *Rhynchosstylis gigantea* (Lindl.) Ridl. through immature seed-derived protocorm-like bodies. *Journal of Horticulture and Forestry*. 1(6): 93-97