

Keragaan Pertumbuhan Kalus Sagu Tidak Berduri pada Media MS yang Dimodifikasi

NURHAINI MASHUD

Balai Penelitian Tanaman Kelapa dan Palma Lain, Manado
Jalan Raya Mapanget, Kotak Pos 1004 Manado 95001

Diterima 19 Januari 2009 / Direvisi 19 Maret 2009 / Disetujui 28 Mei 2009

ABSTRAK

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan, Balai Penelitian Tanaman Kelapa dan Palma Lain Manado, Sulawesi Utara, pada tahun 2008. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui pertumbuhan kalus pada media MS yang dimodifikasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kalus terbentuk pada media MS yang dimodifikasi setelah 4-5 bulan setelah kultur awal. Kalus embriogenik terbentuk setelah 5-6 bulan disubkulturkan pada media dengan konsentrasi 2,4-D 100 mg/l, sedangkan embrio somatik ter-bentuk 3-5 bulan disubkulturkan pada media dengan konsentrasi 2,4-D 50 mg/ml media. Konsentrasi 2,4-D untuk pembentukan embrio somatik lebih rendah dari pembentukan kalus embriogenik. Hasil penelitian ini menggambarkan bahwa eksplan sagu tidak berduri dapat membentuk kalus hingga embrio somatik pada media MS yang dimodifikasi.

Kata kunci: Eksplan, sagu tidak berduri, kalus embriogenik, embryo somatik.

ABSTRACT

Performance of Non-Spiny Sago Callus on Modified MS Media

The research was conducted in Tissue Culture Laboratory of Indonesian Coconut and Other Palmae Institute, North Sulawesi, in 2008. The aim of the research was to know the growth of callus on modified MS medium. The result indicated that embryogenic callus were formed in 5 to 6 months after subculturing in the media with concentration of 2,4-D 100 mg/l, where as embryo somatic were formed in 3 to 5 months subculturing in the media with concentration of 2,4-D 50 mg/l. The concentration of 2,4-D is lower for embryo somatic formation than embryogenic callus formation. This result showed that the explant of sago can growth in modified MS medium.

Keywords: Explant, non-spiny sago, embryogenic callus, somatic embryo.

PENDAHULUAN

Sagu (*Metroxylon sp*) merupakan tanaman penghasil pati yang paling tinggi di antara tanaman penghasil pati

lainnya. Walaupun kebanyakan peneliti menyatakan produksi pati 25 ton/ha/tahun (Flach, 1984), namun rata-rata produksi pati/ha/tahun dengan cara pengolahan tradisional > 10 ton (Jong, 2007), dengan pengolahan semi intensif

di Tebing Tinggi 13,7 ton (Yamamoto *et al.*, 2007) dan 15 ton dengan pengelolaan intensif (Jong, 2007). Nilai kalori dari sagu tidak kalah dengan sumber pangan lainnya, seperti beras, jagung, ubi dan kentang, yaitu berturut-turut 357, 366, 349, 98,0 dan 71,0 per 100 gram bahan (Sunaryo dalam Novariant dan Mahmud, 1989). Selain itu, tanaman sagu dapat memperbaiki efek rumah kaca dari atmosfer yang menyebabkan pemanasan global, yaitu, melindungi lingkungan dan mengurangi emisi CO₂. Hal ini disebabkan tanaman sagu memiliki efisiensi fotosintesis yang tinggi karena memiliki 1000 stomata (mulut daun) per mm² daun (Omori *et al.*, 2000). Di daerah tropis, tanaman sagu menyerap CO₂ sepanjang tahun dan dikonversi ke dalam bentuk karbohidrat dalam jumlah yang banyak dan disimpan dalam bentuk pati pada batangnya yang besar (Jong, 2007). Kemampuan penyerapan CO₂/ha/tahun tanaman sagu adalah 1445 ton, lebih tinggi dibanding dengan tanaman penghasil karbohidrat lainnya, seperti tebu 1123 ton, jagung 1080 ton, ubi kayu 842 ton, ubi jalar 442 ton dan padi 405 ton (Pranamuda dan Kusnandar, 2007). Berdasarkan data tersebut, apabila luas areal sagu di Indonesia 1,4 juta ha, maka CO₂ yang dapat diserap tanaman sagu sebanyak 2.023 juta ton.

Berdasarkan sifat fisik dan kimia pati sagu, pemanfaatannya tidak hanya terbatas pada bahan pangan saja, tetapi juga sebagai bahan baku industri non pangan. Oleh karena hasil pati yang superior ini, dan produksi pati secara berkelanjutan menyebabkan pemanfaatan pati sagu untuk produksi bio-etanol lebih besar dari tanaman penghasil pati lainnya, terutama ubi kayu. Produksi pati sagu rata-rata 15 ton/ha/tahun, dapat difermentasi menghasilkan

bioetanol 7,5 ton. Selain itu, 2%-5% kandungan gula yang ada dalam *palm pith* dapat dikonversi menjadi etanol yang selanjutnya akan meningkatkan etanol yang dihasilkan, apabila *entire fresh pith* dimanfaatkan. *Fibrous waste* yang banyak juga dapat digunakan sebagai bahan baku untuk *etanol selulosik*, dan hasil penelitian di sebuah institusi swasta menunjukkan bahwa etanol selulosik ini dapat dikonversi secara efisien menjadi etanol. Kombinasi penggunaan pati sagu, gula dan selulosa ini diharapkan dapat menghasilkan etanol 10 ton/ha/tahun, lebih tinggi dari ubi kayu (3-5 ton/ha) dan tebu (6-7 ton/ha). Apabila sagu digunakan untuk produksi etanol, dampak dari harga yang diantisipasi relatif lebih kecil dari pati yang berasal dari tanaman lainnya (Jong, 2007).

Makin berkembangnya kebutuhan energi terbarukan yang ramah lingkungan, memberi peluang untuk pengembangan sagu penghasil bioetanol dan sekaligus tanaman ini berfungsi untuk mengurangi pemanasan global, karena memiliki kemampuan yang tinggi untuk menyerap CO₂. Pengembangan sagu baik dalam bentuk pembukaan areal baru ataupun peremajaan tanaman sagu, dibutuhkan bibit sagu dalam jumlah banyak, seragam, dan berkesinambungan. Tanaman sagu diperbanyak secara generatif (dengan biji) dan secara vegetatif menggunakan anakan (*sucker*). Produksi biji jarang karena umumnya tanaman dipanen untuk diambil patinya dengan cara menebang pohon sesaat sebelum berbunga. Oleh karena itu, umumnya perbanyak tanaman sagu dilakukan secara vegetatif, yaitu menggunakan anakan. Untuk membangun perkebunan sagu skala besar, ketersediaan anakan yang seragam merupakan satu hambatan utama (Jong, 1995),

selain itu, karena ukuran anakan yang baik untuk digunakan sebagai bibit adalah 2 - 3 kg (Mailangkay *et al.*, 2008), sehingga mengalami kesulitan dalam pengangkutan anakan dalam jumlah banyak. Kultur jaringan atau kultur *in vitro* merupakan alternatif yang dapat digunakan untuk memperbanyak sagu dalam rangka penyediaan bahan tanaman.

Kultur jaringan tanaman sagu telah dilakukan oleh Hisajima *et al.* (1991) melalui embriogenesis zigotik dan oleh Tahardi *et al.* (2002) melalui embriogenesis somatik. Perkembangan awal embrio somatik diperoleh melalui jaringan tunas apikal sebagai eksplan yang dikulturkan pada media MS yang dimodifikasi dengan konsentrasi 2,4-D yang tinggi dan 1 mg kinetin per liter media (Tahardi *et al.*, 2002). Embriogenesis somatik dipilih karena potensial untuk menghasilkan bahan tanaman yang seragam dalam jumlah banyak, (Handley, 1995). Embriogenesis somatik merupakan salah satu aplikasi penting dalam propagasi tanaman secara vegetatif dalam skala besar (Arnold *et al.*, 2002). Eksplan dikulturkan pada media MS (Murashige dan Skoog, 1962) yang dimodifikasi untuk mendapatkan kalus. Embrio somatik diinduksi dari kalus tersebut, namun dalam fase perkembangan embrio somatik terjadi keragaman morfologi, yaitu ukuran, bentuk dan warna embrio. Embrio somatik telah berhasil tumbuh dan berkembang menjadi *plantlet* (Kasi dan Sumaryono, 2006). Keberhasilan hidup bibit sagu hasil kultur jaringan pada saat aklimatisasi masih rendah, yaitu 30% (Sumaryono *et al.*, 2007).

Penelitian bertujuan untuk mengetahui pertumbuhan kalus sagu

tidak berduri pada media MS yang dimodifikasi.

BAHAN DAN METODE

Bahan tanaman yang digunakan sebagai eksplan adalah tunas pucuk (*shoot tip*) dari anakan sagu (*sucker*) tidak berduri, yang diambil dari kebun sagu rakyat di Desa Poigar, Kecamatan Sinonsayang, Kabupaten Minahasa Selatan, Provinsi Sulawesi Utara. Perlakuan yang dicoba adalah media tumbuh Murashige dan Skoog (1962) yang dimodifikasi.

Untuk induksi dan inisiasi kalus embriogenik digunakan tunas pucuk dari anakan sagu tidak berduri sebagai eksplan. Kulit luar tunas dikeluarkan dan tunas dicuci bersih dengan aquades steril kemudian dilap dengan alkohol menggunakan kapas steril. Tunas pucuk tersebut diisolasi secara aseptik dalam *Laminar Air Flow* (LAF) (Gambar 1). Eksplan dikulturkan dalam medium MS yang dimodifikasi yang disuplemen dengan zat pengatur tumbuh 2,4-D 10 mg/l + kinetin 0,1 mg/l. Kultur diinkubasi dalam ruang gelap pada suhu 26°C-27°C, dengan sub kultur dua kali.

Kalus embriogenik yang diperoleh yang masih kecil dan relatif lunak ditanam pada botol selai yang berisi medium MS yang dimodifikasi dengan suplemen zat pengatur 2,4-D 5 mg/l + kinetin 0,1 mg/l. Kultur diinkubasi dalam ruang terang menggunakan lampu TL pada suhu yang sama dengan induksi kalus embriogenik, yaitu 26°C-27°C.

Parameter yang diamati adalah pembentukan kalus dan embrio somatik.



(a)



(b)

Gambar 1. Tunas sagu tidak berduri (a) dan preparasi eksplan yang berasal dari tunas (b).
Figure 1. Sucker of sago non-spiny (a) and preparation of explant from shoot-tip.

HASIL PENELITIAN

Eksplan yang dikulturkan dalam media MS yang dimodifikasi tumbuh menjadi kalus setelah dua kali sub kultur. Awal pembentukan kalus terjadi setelah eksplan dikulturkan pada media MS yang dimodifikasi. Kalus pertama yang tumbuh berukuran kecil dan pembentukan kalus dimulai pada bagian ujung eksplan (Gambar 2). Pembentukan kalus embriogenik terjadi setelah 5-7 bulan setelah dikulturkan pada media MS yang dimodifikasi. Media yang digunakan untuk pembentukan kalus ini disuplemen dengan zat pengatur tumbuh 2,4-D dengan konsentrasi 10 mg// media (Gambar 3a). Tahardi *et al.* (2002) menyatakan bahwa media dengan konsentrasi auksin tinggi dalam hal ini 2,4-D digunakan untuk inisiasi kalus dari eksplan yang berasal dari species palma termasuk sagu. Pada media tanpa 2,4-D hanya beberapa kalus yang terbentuk dan pembentukan embrio somatik terjadi lebih dari satu minggu. Dalam penelitian

ini, waktu yang dibutuhkan untuk pembentukan kalus embriogenik dalam penelitian ini lebih lama (5-7 bulan) dibandingkan dengan sagu berduri, yaitu 4-8 minggu (Riyadi, 2006). Kalus embriogenik mulai membentuk embrio somatik setelah 10 hari dikulturkan.

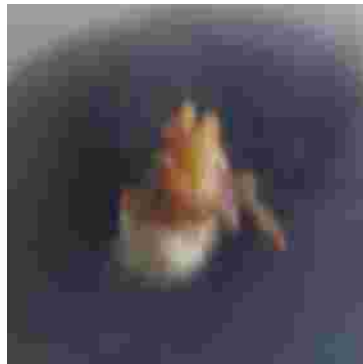


Gambar 2. Pertumbuhan awal eksplan sagu tidak berduri (kalus mulai terbentuk pada bagian ujung eksplan).

Figure 2. Initial growth of non-spiny sago explant (Callus was formed at the tip of explant).

Tahap selanjutnya adalah pembentukan embrio somatik dari kalus embriogenik. Untuk menginduksi embrio somatik, kalus yang terbentuk ini disubkulturkan pada media dengan konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4-D lebih rendah dari media awal, dan ditempatkan dalam ruang terang menggunakan lampu TL pada suhu 26°C-27°C. Hasil penelitian Riyadi *et al.* (2005) menunjukkan bahwa untuk menginduksi embrio somatik, kalus yang terbentuk harus dipindahkan ke dalam media dengan konsentrasi 2,4-D yang dikurangi secara bertahap. Dalam penelitian ini, untuk induksi embrio somatik digunakan 2,4-D dengan konsentrasi 50 mg // media. Chan *et al.* (1998); Fernando dan Gamage (2002) menyatakan bahwa untuk menginduksi embriogenesis somatik, kalus yang terbentuk harus disubkulturkan ke dalam media dengan konsentrasi 2,4-D yang dikurangi secara bertahap, seperti pada tanaman kelapa dan palma (Huong *et al.*, 1999).

Embrio somatik terbentuk dari kalus embriogenik yang mengalami pembesaran. Pertumbuhan embrio somatik terjadi setelah tiga hingga lima bulan setelah disubkulturkan ke dalam media MS dengan konsentrasi 2,4-D yang rendah (50 mg// media). Embrio somatik yang terbentuk, pada tahap awal berwarna putih, kemudian sebagian berubah warna menjadi kuning kehijauan dan hijau (Gambar 3b). Seperti halnya pembentukan kalus embriogenik, maka waktu pembentukan embrio somatik sagu tidak berduri lebih lama dibandingkan dengan sagu berduri dari penelitian Riyadi (2006). Hasil penelitian menggunakan sagu berduri sebagai eksplan lebih cepat membentuk kalus (29 hari) dibandingkan dengan sagu tidak berduri (41 hari). Oleh karena itu, waktu pembentukan embrio somatik dari kalus embriogenik lebih lama pada sagu tidak berduri.



(a)



(b)

Gambar 3. Kalus embriogenik (a) dan embrio somatik (b).
Figure 3. Embryogenic callus (a) and somatic embryo of non-spiny sago (b).

KESIMPULAN

1. Kultur jaringan sagu dilakukan dalam lima tahap, yaitu induksi kalus embriogenik, induksi dan maturasi embrio somatik, perkecambahan embrio somatik, pembesaran *plantlet* hingga siap diaklimatisasi dan aklimatisasi *plantlet* hingga menjadi bibit. Tahapan kegiatan yang telah dilakukan dalam penelitian ini adalah induksi kalus embriogenik dan induksi embrio somatik.
2. Media MS yang dimodifikasi berpengaruh terhadap pembentukan kalus tidak berduri. Kalus dari eksplan sagu tidak berduri terbentuk 5-7 bulan setelah kultur awal pada media dengan konsentrasi 2,4-D yang tinggi, yaitu 100 mg/l.
3. Pembentukan embrio somatik dari kalus embriogenik terjadi 3-5 bulan setelah dikulturkan pada media MS yang dimodifikasi dengan konsentrasi 2,4-D lebih rendah, yaitu 50 mg/l.

DAFTAR PUSTAKA

- Arnold S van, Sabala I, Bozhkov P, Dyachok J and Filinova L. 2002. Development Pathways of Somatic Embryogenesis. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 69:233-249.
- Chan JI, Saenz L, Talavera C, Hornung R, Robert M, Oropeza C. 1998. Regeneration of coconut (*Cocos nucifera*, L) from Plumule explant through somatic embryogenesis. *Plant Cell Rep*. 17:515-521.
- Flach M. 1984. The sago palm. *FAO Food production and protection Paper* 47. AGPC/MISC/80. Food and Agriculture Organization of the United Nation, Rome. PP 85.
- Fernando SC, Gamage CKA. 2000. Absisic Acid Induced Somatic Embryogenesis in Immature Embryo Explants of Coconut (*Cocos nucifera*, L). *Plant Science* 151:193-198.
- Handley LW. 1995. Future uses of somatic embryogenesis in woody plantation species. In S. Jain *et al* (eds). *Somatic embryogenesis in woody plant* Vol. 1:415-434.
- Hisajima S, Jong FS, Aray Y, Sim ES. 1991. Propagation and breeding of sago palm. (*Metroxylon sagu* Rottb). *Plant In Vitro: 1. Embryo Culture and Induction of Multiple Shoots from Sago Embryos In Vitro*. Japan. *Journal Trop.Agric*. 35(4):259-267.
- Huong LTL, Baiocco M, Huy BP, Mezzetti B, Santilocchi R, Rosali P. 1999. Somatic embryo-genesis in canary island date palm. *Plant cell tissue and organ culture*. 56:1-7.
- Jong FS. 2007. The commercial potential of sago palms and methods of commercial sago palm (*Metroxylon sagu* Rottb) Plantation establishment. *Prosiding Lokakarya Pengembangan Sagu di Indonesia*. Hal. 51-62 Batam 25-26 Juli 2007. ISBN:978-979-8451-50-8. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. 2007.
- Jong FS. 1995. Research for the development of sago palm (*Metroxylon sagu* Rottb) cultivation in Sarawak, Malaysia, Sadong Press Sdn. Bhd. 139 pp.
- Kasi PD, Sumaryono. 2006. Keragaman Morfologi Selama Perkembangan Embrio Somatik Sagu (*Metroxylon sagu* Rottb). *Menara Perkebunan* 74(1):44-52.

- Maliangkay RB, Mashud N, Manaroinsong E. 2008. Pengaruh ukuran anakan terhadap pertumbuhan bibit sago. Buletin Palma No. 34:70-74. ISSN : 1979-679X. Departemen Pertanian. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. Bogor. 2008.
- Murashige T, Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, 15: 473-479.
- Novarianto H, Mahmud Z. 1989. Sagu pendamping beras di masa depan. Buletin Balitka, No. 7:1-8.
- Omori K, Yamamoto Y, Nitta Y, Yoshida T, Kakuda K, Jong FS. 2000. Stomatal density of sago palm (*Metroxylon sagu*, Rottb) with special reference to positional differences in leaflets and leaves, and change by palm age sago Palm 8:2-8.
- Pranamuda H, Kusnandar. 2007. Lactic acid fermentation using samples from sago starch factory. Prosiding Lokakarya Pengembangan Sagu di Indonesia. Hal. 141-146 . Batam 25-26 Juli 2007. ISBN:978-979-8451-50-8. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. 2007.
- Riyadi I, Tahardi JS, Sumaryono. 2005. The development of somatic embryos of sago palm (*Metroxylon sagu* Rottb) on solid media. *Menara Perkebunan* 73: 35-43. Indonesian Biotechnology Research Institute for Estate Crops. Bogor.
- Sumaryono I, Royadi, Kasi PD. 2007. Perbanyak klonal tanaman sago melalui kultur jaringan. Hal. 110-118. Batam 25-26 Juli 2007. ISBN:978-979-8451-50-8. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. 2007.
- Tahardi JS, Sianipar NF, Riyadi I. 2002. Somatic embryogenesis in sago palm (*Metroxylon sagu* Rottb). In K. Kaimuna *et al.* editions New frontiers of sago palm studies. Tokyo, Japan. Universal Academic Press, Inc. p.75-81.
- Yamamoto Y, Omori K, Jong FS, Miyazaki A, Yoshida T. 2007. Estimate of annual starch productivity in sago palm, a case study at Tebing Tinggi Island, Riau, Indonesia. Paper Presented at 9th International Sago Symposium Leyte, Philippines. 919-21 Juli 2007.