

KULTUR KEPALA SARI PADA TEMBAKAU BURLEY

Sitti Fatimah Syahid dan Ika Mariska
Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri

RINGKASAN

Kultur kepala sari telah dilakukan pada tanaman tembakau varietas Burley. Dari hasil percobaan diharapkan dapat dihasilkan tanaman haploid. Penelitian dilakukan di laboratorium Kultur Jaringan Puslitbangtri, Bogor, dengan waktu percobaan selama 10 bulan. Kepala sari yang digunakan berasal dari kuncup bunga yang berukuran 3.9 cm. Kepala sari ditanam pada media dasar MS, GAMBORG serta NITSCH dan NITSCH yang diberi sukrosa 85 mg/l + glutamin 80 mg/l + serin 10 mg/l + meso-inositol 10.0 mg/l + glisin 100 mg/l serta penambahan agar 8 g/l untuk membuat media menjadi padat. Perlakuan media dasar dan zat pengatur tumbuh yang diberikan adalah: MS, MS + GA 0.3 mg/l, GAMBORG + BA 5 mg/l, NN + IAA 0.1 mg/l + BA 1 mg/l dan NN + IAA 0.1 mg/l + Kin 1 mg/l. Struktur embrioid (akhirnya plantlet) dapat terbentuk langsung dari media MS yang diperkaya dengan GA 0.3 mg/l. Proses androgenesis tidak langsung terjadi pada media GAMBORG + BA 5 mg/l. Pada tanaman hasil kultur kepala sari terdapat beberapa penampakan yang berbeda terutama pada warna dan bentuk daunnya serta banyak ditemukan biakan yang bulai.

PENDAHULUAN

Tembakau Burley merupakan tembakau yang paling banyak diminta di samping tembakau Virginia. Kedua macam tembakau ini tergolong type ringan. Semula tembakau Burley digunakan sebagai tembakau pipa dan susur, kemudian dipakai sebagai tembakau sigaret, maka berubah pulalah syarat-syarat yang diminatkan terhadap produk ini (Abdullah *et al.* Hamid, 1974).

Untuk menciptakan varietas baru dengan waktu yang relatif lebih cepat dapat dilakukan melalui kultur kepala sari yang diikuti dengan penggandaan khromosomnya. Watimena (1988) menyatakan bahwa tanaman haploid yang dihasilkan dapat digunakan sebagai penghasil kultivar baru. Penggandaan sifat-sifat baik dominan atau resesif dari tanaman haploid menghasilkan tanaman dihaploid yang homozigot. Dikatakannya pula seleksi dari kepala sari F1

dari silangan tertentu akan menghasilkan tanaman diploid berproduksi tinggi.

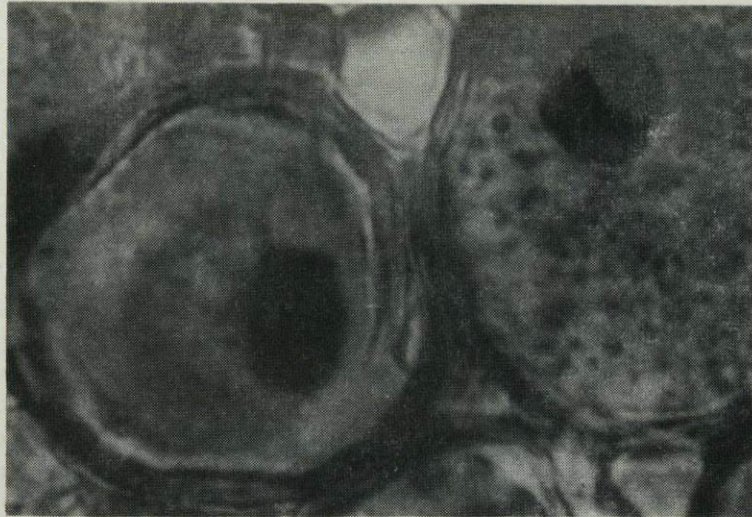
Pada tanaman tembakau, diploidisasi khromosom dari tanaman haploid menghasilkan tanaman dihaploid yang tahan terhadap penyakit dan kualitas gulung yang baik (Wark dalam Bhojwani & Razdan, 1983).

Keberhasilan proses androgenesis dalam kultur kepala sari ditentukan antara lain oleh komposisi medium, umur dan jenis tanaman induk yang dipakai, tingkat perkembangan mikrospora yang digunakan serta waktu pengambilan kepala sari.

Pada tanaman *Arabidopsis thaliana* tanaman haploid dapat terbentuk bila anther berada pada tahap tetrad, sedangkan pada tanaman *Brassica oleraceae* mikrospora pada tahap binukleat. Pada genus *Nicotiana* keberhasilan mendapatkan tanaman haploid bila mikrospora berada pada tahap pramitosis atau postmitosis (Kameya & Hinata, 1970).

Media dasar yang dipakai pada kultur tepung sari dan kultur kepala sari tanaman tembakau di antaranya adalah media NITSCH dan NITSCH yang ditambah glutamin 80 mg/l, serin 10 mg/l, IAA 0.1 mg/l, zeatin 0.1 mg/l dan meso-inositol 100 mg/l. Selain itu banyak pula digunakan media dasar yang umum dipakai yaitu media MURASHIGE dan SKOOG yang diperkaya dengan zat pengatur tumbuh, vitamin dan asam amino (Asad, 1986). Bahkan Finardi (1981) memakai media dasar GAMBORG yang diberi BA 5 mg/l.

Asad (1986) menyatakan walaupun telah ditemukan berbagai faktor yang dapat menentukan keberhasilan kultur kepala sari dari suatu varietas maka respon varietas lain dalam satu spesies yang sama dapat berbeda. Dengan demikian dicoba kultur kepala sari tanaman tembakau untuk mempelajari respon varietas Burley terhadap perlakuan yang diberikan.



Gambar 1. Kepala sari yang berada pada tahap uninukleat

BAHAN DAN METODE

Eksplan yang digunakan adalah kepala sari dari tanaman tembakau varietas Burley yang berasal dari kuncup bunga berukuran 3.9 cm. Setelah dilakukan pengamatan di bawah mikroskop dengan menggunakan larutan arceto-orcein 2% ternyata kepala sari yang digunakan berada pada tahap uninukleat (Gambar 1).

Percobaan 1

Sterilisasi kepala sari dilakukan berturut-turut dengan alkohol 70% selama empat menit, clorox 20% + tween tiga tetes 10 menit dan terakhir dibilas dengan aquades steril sebanyak tiga kali.

Kepala sari yang sudah steril ditanam pada media dasar MS atau media GAMBORG dan media NITSCH dan NITSCH (NN) diberi sukrosa 85 g/l + glutamin 80 mg/l + serin 10 mg/l + meso-inositol 100 mg/l + glisin 100 mg/l. Untuk membuat media menjadi padat, diberikan agar sebanyak 8 g/l kedalam media. Pada ketiga media tersebut diberi zat pengatur tumbuh dengan perlakuan :

1. MS
2. MS + GA 0.3 mg/l
3. GAMBORG + BA 5 mg/l
4. NN + IAA 0.1 mg/l + BA 1 mg/l
5. NN + IAA 0.1 mg/l + KINETIN 1 mg/l

Pengamatan dilakukan setiap minggu terhadap perkembangan kepala sari setiap minggu sampai terbentuk plantlet, dengan parameter jumlah kepala sari yang membentuk kalus, embrioid, plantlet dan persentase kepala sari yang tumbuh.

Percobaan 2

Setelah terbentuk plantlet dari kultur kepala sari maka dilakukan percobaan perbanyakan secara *in vitro*. Sebagai pembanding dilakukan pula perbanyakan dari jaringan vegetatif yang 2n, dengan eksplan yang digunakan berasal dari biakan dalam botol.

Eksplan batang satu buku yang mempunyai dua mata tunas lateral ditanam pada media MS yang diberi kinetin 1 dan 2 mg/l. Setelah terbentuk tunas dilakukan subkultur pada media yang sama.

Pengamatan dilakukan terhadap jumlah tunas yang terbentuk tiap eksplan dan keadaan biakan secara visual.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Percobaan 1

Respon kepala sari terhadap perlakuan yang diberikan pada umumnya agak lambat, sampai umur enam minggu biakan tidak menunjukkan adanya pertumbuhan. Bahkan pada umumnya kepala sari menunjukkan adanya perubahan warna dari hijau menjadi coklat dan diduga menjadi mati. Tetapi pada umur 7-8 minggu dari beberapa kepala sari yang berwarna coklat tersebut, mulai menunjukkan adanya pertumbuhan membentuk struktur embrioid dan tunas adventif.

Tabel 1. Respon anther terhadap perlakuan media dasar dan zat pengatur tumbuh, umur 8 minggu.

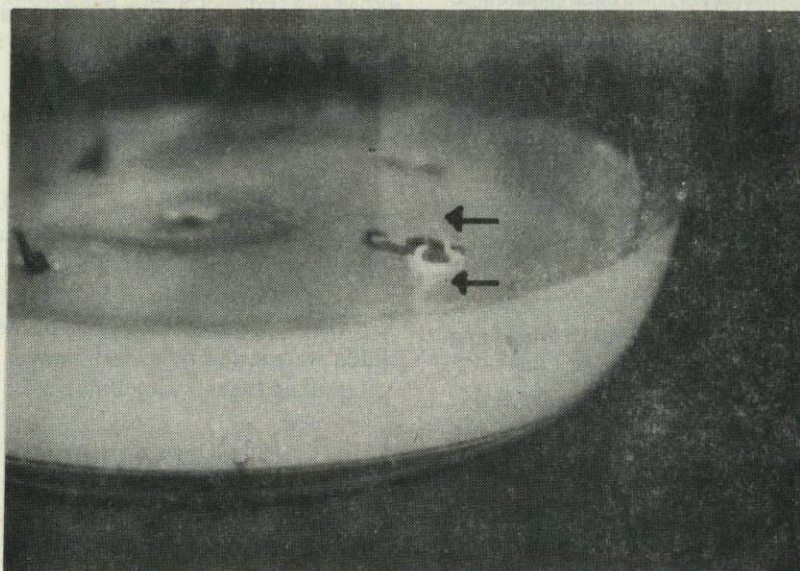
Perlakuan	Jumlah kepala sari yang ditanam	Kepala sari dengan kalus	Kepala sari yang membentuk embrioid langsung	Plantlet	% -ase yang tumbuh
MS	50	0	6	4	8
MS+GA mg/l 0.3	50	0	14	12	24
GAMBORG+BA mg/l 5	50	6	0	6	12
NN + IAA 0.1 mg/l + BA 1 mg/l	50	0	0	0	0
NN + IAA 0.1 mg/l + KINETIN 1 mg/l	50	0	0	0	0

Dari Tabel 1 terlihat bahwa plantlet paling banyak terbentuk pada media dasar MS + GA 0.3 mg/l. Proses pembentukan plantlet terjadi melalui dua tahap yaitu proses androgenesis langsung pada perlakuan MS dan MS + GA 0.3 mg/l serta androgenesis tidak langsung pada perlakuan GAMBORG + BA 5 mg/l. Pada androgenesis yang tidak langsung dari kepala sari tumbuh kalus dan dari permukaan kalusnya terbentuk tunas adventif. Pada proses androgenesis langsung terbentuk struktur embrio yang membentuk plantlet dari sel gamet yang mempunyai dua titik pusat pertumbuhan tunas dan akar (Gambar 2).

Persentase keberhasilan pada media MS tanpa zat pengatur tumbuh relatif lebih rendah dibandingkan dengan media MS + zat pengatur tumbuh dan media GAMBORG dengan zat pengatur tumbuh. Kemungkinan pertumbuhan mikrospora masih memerlukan adanya tambahan zat pengatur tumbuh yang diberikan secara eksogen. Secara umum persentase keberhasilan pada semua perlakuan masih rendah. Asad (1986) menyatakan bahwa banyak faktor yang menentukan keberhasilan selain komposisi media, tingkat pertumbuhan mikrospora dan sifat genetik. Terdapat pula faktor lain yang juga berpengaruh terhadap perkembangan kepala sari yaitu kondisi tanaman induk di rumah kaca. Varietas Burley yang digunakan sebagai sumber eksplan pada percobaan ini pertumbuhannya kurang optimal karena kondisi rumah kaca yang

ada pada saat ini sangat sederhana serta sangat terbatasnya tanaman induk bagi sumber kepala sari yang dapat diberi pra-perlakuan. Finardi (1981) menyatakan bahwa keberhasilan tertinggi didapatkan bila kepala sari diambil dari tanaman yang baru berbunga pertama kali.

Pada media NITSCH dan NITSCH tidak ada satupun kepala sari yang dapat melakukan pertumbuhan. Kemungkinan komposisi media yang diberikan tidak cocok bagi kepala sari varietas Burley, walaupun dengan media dasar yang sama telah banyak memberikan keberhasilan pada tanaman yang sama tetapi pada varietas yang berbeda.



Gambar 2. Plantlet dari kepala sari tembakau varietas Burley pada media MS + GA 0.3 mg/l

Dari Tabel 2 terlihat jumlah embrioid tiap kepala sari paling banyak terbentuk dari MS + GA 0.3 mg/l. Pada media GAMBORG + BA 5 mg/l hanya terbentuk tunas adventif dari permukaan kalus. Diduga BA yang dipakai konsentrasinya terlalu tinggi, sehingga kepala sari cenderung membentuk kalus. Sesuai dengan fungsi dari BA untuk memacu pembelahan sel, maka dengan konsentrasinya yang relatif tinggi sifatnya lebih memacu proses dediferensiasi tepung sari. Dari hasil pengamatan terlihat adanya pertumbuhan kalus yang lebih cepat dari pada pertumbuhan tunas adventifnya. Dengan

demikian untuk mempercepat pertumbuhan, tunas adventif di subkultur pada media baru dengan konsentrasi BA yang lebih rendah 1 mg/l. Diharapkan langkah tersebut dapat merubah arah pertumbuhan dan memacu proses diferensiasi selanjutnya. Ternyata setelah dipindahkan tunas adventif cepat melakukan proliferasi dan biakan tersebut dijadikan sumber eksplan untuk percobaan 2.

Percobaan 2

Rataan jumlah tunas yang terbentuk dari biakan hasil kultur kepala sari pada subkultur-1 umumnya lebih rendah dari pada jaringan vegetatif (Tabel 3). Diduga jaringan dari biakan kepala sari masih beradaptasi terhadap lingkungan yang baru. Pada tahap berikutnya (subkultur ke-2) terjadi peningkatan dalam pembentukan tunas baru. Jaringan yang berasal dari kepala sari maupun dari jaringan vegetatif membentuk tunas yang hampir sama jumlahnya dan pada media kinetin 2 mg/l kedua jaringan

Tabel 2. Proses androgenesis dari kultur kepala, umur delapan minggu

Perlakuan	Rataan jumlah embrioid/ kepala sari	Pembentukan tunas adventif/ kepala sari
MS	1	0
MS + GA 0.3 mg/l	3	0
GAMBORG + BA 5 mg/l	0	1
NN + IAA 0.1 + BA 1 mg/l:	0	0
NN + IAA 0.1 + KINETIN 1 mg/l:	0	0

Tabel 3. Pengaruh asal jaringan eksplan batang satu buku terhadap pembentukan tunas, umur empat empat minggu

Asal jaringan dari	Kinetin (mg/l)	Rataan jumlah tunas	
		Subkultur-1	Subkultur-2
Biakan hasil kultur anther	1	3	10.5
	2	6	15.5
Biakan jaringan vegetatif tanaman induk	1	8.5	15.0
	2	12.5	20.0

yang berbeda tersebut membentuk tunas yang lebih banyak dari pada kinetin 1 mg/l.

Dari hasil pengamatan secara visual terdapat adanya perbedaan penampakan bentuk dan warna daun pada biakan yang berasal dari kultur kepala sari bila dibandingkan dengan biakan yang berasal dari jaringan vegetatif (Tabel 4). Biakan dari kultur kepala sari yang berasal dari proses androgenesis yang tidak langsung membentuk biakan yang daunnya berwarna putih (bulai). Finardi (1981) menyatakan bahwa tanaman yang berasal dari kepala sari sering menjadi bulai. Dikatakannya pula bahwa diduga plantlet yang terbentuk tersebut hanya berasal dari pembelahan inti generatif saja. Hal yang berbeda pada proses androgenesis yang langsung biakan yang terbentuk mempunyai warna dan bentuk daun yang sama dengan biakan jaringan vegetatif pohon induknya.

Biakan dari kultur kepala sari pada umumnya mempunyai bentuk yang lebih kecil dari pada biakan dari jaringan vegetatif. Hal yang sama banyak ditemukan pada tanaman haploid lainnya (Jonard, 1979).

Tabel 4. Perbedaan penampakan pada biakan yang berasal dari kultur kepala sari

Biakan Asal	Warna daun	Bentuk daun	Proses androgenesis
Jaringan vegetatif	hijau	normal	
Kepala sari	putih	bulat memanjang, kecil	tidak langsung tidak langsung
	hijau	normal memanjang, kecil	langsung langsung

Penelitian ini masih dilanjutkan untuk melihat kepastian bahwa tanaman yang dihasilkan merupakan tanaman haploid atau diploid yang terjadi spontan.

KESIMPULAN

Struktur embrioid (akhirnya plantlet) dapat terbentuk langsung dari media MS yang diperkaya dengan GA 0.3 mg/l.

Pada tanaman hasil kultur anther terdapat beberapa penampakan yang berbeda terutama pada warna dan bentuk daunnya, serta banyak ditemukan biakan yang bulai.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, A., A. Hamid, I.P.G., W. Adhi, G. Pangudiatno, & M. Hutabarat. 1974. Survey kemungkinan pengusahaan tembakau Virginia dan Burley di Sumatra Utara. Pemberitaan LPTI. (19-20): 1-77.
- Asad, A. A. 1986. Application de la culture *in vitro* a l'amelioration du tournesol *Helianthus annuus*. These Doctorat. USTL. Montpellier, France.
- Bhojwani, S. S. & M.K. Razdan. 1983. Plant Tissue Culture: Theory and Practice. Development in Crop Science. Elsevier Science Publisher. Amsterdam.
- Finardi, N. L. 1981. Essai d'obtention de plantes de pecher (*Prunus persica* L.). These Doctorat. USTL. Montpellier, France.
- Hamid, A. 1974. Pedoman Bercocok Tanam Tembakau Burley. Ditjenbun. Departemen Pertanian.
- Jonard, R. 1979. Les applications agronomiques des tissus vegetaux cultives *in vitro* + Les tumerus chez les vegetaux. Agronomic mention Phytotechnic et Physiologie de la Nutrition Minerale des Vegetaux. USTL, ENSAM. Montplellier, France.
- Kameya, T. & Hinata, K. 1970. Induction of haploid plants from pollen grains of *Brassica*. Jap. J. Breeding. 20:82-87.
- Watimena, G. A. 1988. Biotek yang menunjang pertanian dan industri yang tangguh dan

berkelanjutan. Makalah dalam Seminar Pengembangan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi Untuk Menunjang Pemba-

ngunan Pertanian dan Industri Yang Tangguh dan Berkelanjutan. IPB. 21-22 September 1988, Bogor.

