

PERBANYAKAN TANAMAN WIEP (*Grevillea papuana*) SECARA KULTUR JARINGAN

[Tissue Culture of Wiep Plant (*Grevillea papuana*)]

L Agus Sukamto

Bidang Botani, Puslit Biologi-LIPI, Bogor

ABSTRACT

The population of wiep (*Grevillea papuana*) originated from Papua, decreased because of over cutting or over exploitation for timber, ornamental or medicine. Experiment was carried out to propagate wiep by using tissue culture method. Hypocotyls, cotyledons and nodes from seedlings grown in vitro, were used as explants. These explants were grown on Murashige & Skoog medium which macro and micronutrients were half strength, with or without hormones (BA 1 mg/l, BA 1 mg/l + NAA 0,5 mg/l, BA 2 mg/l + NAA 0,5 mg/l, BA 1 mg/l + 2,4-D 0,5 mg/l, and BA 2 mg/l + 2,4-D 0,5 mg/l). All explants did not produce callus on medium without hormones, but produced callus with hormones except BA treatment on cotyledon explants. Bigger callus were produced by explants that were treated by combination BA with NAA or 2,4-D compare to those treated by BA only. Nodes and hypocotyls could produce shoots, but cotyledons did not. Three kinds of explants did not produce any roots. Node is the best explants for producing shoots. Combination of BA 1 mg/l and 2,4-D 0,5 mg/l caused synergistic effect to stimulate shoot production of wiep hypocotyls explants.

Kata kunci/ keywords: Wiep, (*Grevillea papuana*), kultur jaringan/tissue culture, BA, NAA, 2,4-D.

PENDAHULUAN

Wiep (*Grevillea papuana*) merupakan tumbuhan tahunan yang berasal dari Papua. Jenis tumbuhan ini termasuk famili Proteaceae, yang umumnya mempunyai bunga maupun daun yang indah sehingga dapat dimanfaatkan sebagai bunga potong maupun daun perangkai (Kepler, 1988). Di segi lain, daun wiep dimanfaatkan oleh penduduk setempat, antara lain masyarakat tradisional Wamena, Papua sebagai bahan ramuan utama kontrasepsi secara tradisional. Pengambilan material tumbuhan sebagai obat tradisional dan penebangan kayunya untuk bahan bangunan dan kayu bakar yang tidak terkendali mengakibatkan populasi tumbuhan ini menurun secara cepat (Sumaraie-H Priyono, 2000). Oleh karena itu, tindakan perbanyakan tanaman tersebut diperlukan untuk mengatasi populasinya yang makin menurun.

Perbanyakan wiep belum diketahui secara jelas. Tumbuhan muda sebagai hasil perbanyakan bibit secara alamiah ternyata sedikit dijumpai di sekitar tumbuhan induk. Keadaan ini mungkin karena bibit bersangkutan rentan terhadap pengaruh luar yang kurang menguntungkan. Perbanyakan *G. papuana* dengan biji telah dilakukan oleh Sumarnie-H Priyono (2000) dengan merendam biji yang telah dikupas dalam air

kelapa maupun larutan zat pengatur tumbuh (ZPT) kinetin. Hasil dari percobaan tersebut hanya memperbaiki kualitas pertumbuhannya. Perbanyakan tanaman secara kultur jaringan telah diketahui dapat menghasilkan bibit dalam jumlah besar dan waktu yang diperlukan relatif pendek dibanding dengan perbanyakan secara konvensional. Perbanyakan wiep secara kultur jaringan belum pernah dilaporkan, tetapi beberapa tanaman yang masih tergolong satu marga atau satu suku dengan wiep sudah pernah dilaporkan oleh Seelye (1985), Kunisaki (1989), Bunn and Dixon (1992), Tale? a/(1992), Watadef a/(1992), serta Ben-Jaacov dan Dax dalam George (1996), yang dapat dijadikan sebagai bahan acuan. Tujuan percobaan ini untuk mendapatkan teknik perbanyakan tanaman wiep secara kultur jaringan, yang diharapkan dapat memasok bibit untuk mengatasi penurunan populasinya di alam.

BAHAN DAN METODA

Bahan berupa buah wiep berasal dari tanaman yang tumbuh di Kebun Raya Cibodas-LIPI. Buah didisinfektasi dengan cara mencelup buah dalam alkohol 95% dan dibakar sekilas dengan api, kemudian dikupas dalam "laminar air flow". Biji-bijinya ditanam dalam botol kultur yang berisi media formula

Murashige dan Skoog (1962) (*MS*) yang unsur makro dan mikronya dikurangi separuh.

Hipokotil kecambah tumbuhan umur 3 bulan yang tumbuh secara *in vitro*, dipotong sepanjang 1 cm, kotil dipotong melintang menjadi dua bagian dan ruas dipotong sepanjang 1 cm untuk dijadikan eksplan. Eksplan-eksplan tersebut ditanam dalam botol yang berisi media separuh *MS* sebagai kontrol dan diperlakukan dengan menambah beberapa ZPT yaitu *6-Benzylaminopurine* (BA), *a-Naphthalene acetic acid* (NAA) dan *2,4-Dichlorophenoxy acetic acid* (2,4-D). Perlakuanannya sbb:

MS + BA 1mg/1

MS + BA 1 mg/1 + NAA 0,5 mg/1

MS + BA 2 mg/1 + NAA 0,5 mg/1

MS + BA 1 mg/1 + 2,4-D 0,5 mg/1

MS + BA 2 mg/1 + 2,4-D 0,5 mg/1

Kultur diinkubasi dalam ruang yang diatur suhunya sekitar 26°C dan pencahayaan alamiah. Pengamatan perubahan morfogenetis berupa pembentukan kalus, tunas maupun akarnya, yang dilakukan setelah 6 bulan perlakuan.

HASIL

Hipokotil

Eksplan hipokotil wiep tidak membentuk kalus maupun tunas pada kontrol, tetapi berhasil membentuk kalus (100%) dan sebagian membentuk tunas (8,33% - 30%) pada media yang berisi tambahan ZPT. Kalus yang terbentuk pada permulaannya hanya di satu

sisi irisan atau di dua sisi irisan, selanjutnya dapat tumbuh menyelimuti seluruh eksplan.

Eksplan hipokotil membentuk kalus 100% pada semua perlakuan dengan ZPT, yaitu perlakuan BA 1 mg/1 maupun kombinasinya BA 1 mg/1 hingga 2 mg/1 dengan NAA atau 2,4-D 0,5 mg/1 (Tabel 1). Penambahan kombinasi ZPT BA 1 mg/1 hingga 2 mg/1 dengan NAA atau 2,4-D 0,5 mg/1 membentuk kalus 100% dan kalus yang terbentuk lebih besar dibanding dengan perlakuan BA sendiri (Tabel 1).

Hipokotil wiep berhasil membentuk 8,33% tunas pada media dengan tambahan ZPT BA 1 mg/1. Kombinasi perlakuan BA 1 mg/1 hingga 2 mg/1 dengan NAA 0,5 mg/1 belum berhasil membentuk tunas. Perlakuan kombinasi BA 1 mg/1 dengan 2,4-D 0,5 mg/1 menghasilkan jumlah tunas yang terbanyak yaitu 30%. Penambahan konsentrasi BA menjadi 2 mg/1, yang dikombinasi dengan 2,4-D 0,5 mg/1 malahan menurunkan pembentukan tunas menjadi 8,33%. Eksplan hipokotil wiep tidak ada yang membentuk akar (Tabel 1).

Kotil

Eksplan kotil wiep tidak membentuk kalus maupun tunas pada kontrol dan perlakuan BA 1 mg/1. Kombinasi ZPT BA 1 mg/1 hingga 2 mg/1 dengan NAA atau 2,4-D 0,5 mg/1 merangsang pembentukan kalus yang maksimal (100%), tetapi tidak merangsang pembentukan tunas. Tidak ada eksplan kotil wiep yang membentuk akar (Tabel 2).

Tabel 1. Persentase pembentukan kalus, tunas dan akar eksplan hipokotil wiep.

| | Perlakuan | | | | | |
|-------|-----------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | Kontrol | B1 | B1+N.5 | B2+N,5 | B1+D,5 | B2+D,S |
| Kalus | 0,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 |
| Tunas | 0,00 | 8,33 | 0,00 | 0,00 | 30,00 | 8,33 |
| Akar | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |

Keterangan:

B1 = BA konsentrasi 1 mg/1

N,5 = NAA konsentrasi 0,5 mg/1

B2 = BA konsentrasi 2 mg/1

D,5 = 2,4-D konsentrasi 0,5 mg/1

Tabel 2. Persentase pembentukan kalus, tunas dan akar eksplan kotil wiep

| | Perlakuan | | | | | |
|-------|-----------|------|--------|--------|--------|--------|
| | Kontrol | B1 | B1+N,5 | B2+N,5 | B1+D,5 | B2+D,5 |
| Kalus | 0,00 | 0,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 |
| Tunas | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Akar | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |

Tabel 3. Persentase pembentukan kalus, tunas dan akar eksplan mas wiep

| | Perlakuan | | | | | |
|-------|-----------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | Kontrol | B1 | B1+N,5 | B2+N,5 | B1+D,5 | B2+D,5 |
| Kalus | 0,00 | 100,00 | 100,00 | 50,00 | 50,00 | 100,00 |
| Tunas | 50,00 | 100,00 | 50,00 | 50,00 | 100,00 | 50,00 |
| Akar | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |

Ruas

Eksplan ruas wiep tidak membentuk kalus, tetapi membentuk tunas 50% pada kontrol. Perlakuan BA 1 mg/1 merangsang pembentukan kalus 100% dan tunas 100% (Tabel 3). Kombinasi perlakuan BA 1 mg/1 dan NAA 0,5 mg/1, juga menghasilkan kalus 100%, tetapi menurunkan pembentukan tunasnya menjadi 50%. Penambahan konsentrasi BA menjadi 2 mg/1 yang dikombinasikan dengan NAA 0,5 mg/1 menurunkan pembentukan kalus maupun tunas sebesar 50% (Tabel 3).

Pembentukan kalus pada kultur ruas wiep menurun menjadi 50%, tetapi pembentukan tunasnya maksimal (100%) pada perlakuan kombinasi BA 1 mg/1 dengan 2,4-D 0,5 mg/1; sebaliknya perlakuan kombinasi BA 2 mg/1 dengan 2,4-D 0,5 mg/1 menurunkan pembentukan tunas 50%, tetapi pembentukan kalusnya maksimal (100%). Eksplan ruas wiep tidak ada yang membentuk akar (Tabel 3).

PEMBAHASAN

Ketidakmampuan eksplan hipokotil wiep membentuk kalus pada media tanpa tambahan ZPT, menunjukkan bahwa eksplan tersebut tidak mengandung cukup ZPT endogen yang dapat merangsang perubahan morfogenetis. Hipokotil wiep berhasil membentuk kalus 100% dengan penambahan ZPT BA 1 mg/1 maupun kombinasinya BA (1 - 2)

mg/1 dengan NAA 0,5 mg/1 atau 2,4-D 0,5 mg/1, menunjukkan hipokotil wiep mudah dirangsang untuk memproduksi kalus dengan penambahan ZPT BA maupun kombinasinya dengan NAA atau 2,4-D dengan konsentrasi yang rendah. Kalus yang terbentuk lebih kecil pada perlakuan BA dibanding dengan perlakuan kombinasi BA dengan NAA maupun 2,4-D. NAA dan 2,4-D merupakan ZPT golongan auksin yang merangsang pembentukan kalus (Torres, 1989).

Hipokotil membentuk tunas 8,33% pada media dengan tambahan ZPT BA 1 mg/1. Ini dikarenakan BA merupakan ZPT golongan sitokinin yang dapat merangsang pembentukan tunas. Kombinasi perlakuan BA 1 mg/1 hingga 2 mg/1 dengan NAA 0,5 mg/1 tidak berhasil merangsang pembentukan tunas, disebabkan NAA merupakan ZPT golongan auksin yang menghambat pembentukan tunas (Skoog and Miller, 1957).

Perlakuan kombinasi B A1 mg/1 dengan 2,4-D 0,5 mg/1 pada hipokotil wiep menghasilkan jumlah tunas yang terbanyak, diduga adanya pengaruh sinergisme antara ZPT BA dengan ZPT 2,4-D dalam pembentukan tunas. Penambahan konsentrasi BA menjadi 2 mg/1 malahan menurunkan pembentukan tunas menjadi 8,33%. Hal tersebut menunjukkan bahwa BA dengan konsentrasi 2 mg/1 telah melewati titik maksimum dalam merangsang pembentukan tunas pada hipokotil wiep hingga menghambat pembentukan tunasnya.

Eksplan kotil wiep tidak membentuk kalus maupun tunas pada kontrol maupun perlakuan BA 1 mg/l, menunjukkan bahwa jaringan kotil tanaman ini tidak mengandung cukup ZPT endogen yang dapat merangsang perubahan morfologis. Penambahan ZPT sitokinin BA 1 mg/l masih dibawah titik ambang konsentrasi yang dapat merangsang pembentukan kalus maupun tunas. Kombinasi ZPT B A1 mg/l hingga 2 mg/l dengan NAA atau 2,4-D 0,5 mg/l merangsang pembentukan kalus 100%, tetapi tidak merangsang pembentukan tunas, kemungkinan karena kandungan sitokinin endogennya rendah dalam jaringan kotil wiep, hingga BA dengan konsentrasi 2 mg/l yang dikombinasikan dengan NAA atau 2,4-D 0,5 mg/l belum cukup untuk merangsang pembentukan tunas.

Eksplan ruas wiep tidak membentuk kalus, tetapi membentuk tunas 50% pada kontrol. Ini menunjukkan pada jaringan ruas, dimana terdapat mata tunas, mengandung cukup sitokinin endogen hingga dapat merangsang pembentukan tunas tanpa tambahan ZPT dari luar.

Perlakuan BA 1 mg/l pada eksplan ruas wiep merangsang pembentukan kalus 100% dan tunas 100%, tetapi kombinasi perlakuan BA 1 - 2 mg/l dengan NAA atau 2,4-D 0,5 mg/l menurunkan pembentukan tunas atau pembentukan kalusnya. Ini menunjukkan ZPT endogen dalam jaringan ruas wiep sudah cukup tinggi, penambahan ZPT dari luar malah menghambat pertumbuhan kalus maupun tunasnya.

Perbedaan respon antara ketiga eksplan menunjukkan adanya faktor fisiologi atau umur pembentukan jaringan yang digunakan sebagai eksplan, yang sejalan dengan pendapat Murashige (1974). Tidak ada satupun dari ketiga eksplan yang membentuk akar. Ini menunjukkan bahwa eksplan/tunas wiep memerlukan perlakuan auksin tersendiri untuk merangsang pembentukan akarnya. Hal yang sama juga terjadi pada tanaman suku Proteacea, yaitu *Telopea speciosissima* (Seelye, 1985), *Leucospermum* hybrid (Kunisaki, 1989), *L. cordifolium* (Tal et al., 1992), *Grevillea "Roundo"* (Watadef al., 1992) dan *G. rosmarinifolia* (Ben-Jaacov and Dax, 1981), dengan pencelupan tunas dalam larutan auksin sebelum penanaman dalam kultur, maupun penyertaan auksin dalam media kultur.

KESIMPULAN

Eksplan hipokotil, kotil dan ruas wiep (*Grevillea papuana*) tidak membentuk kalus pada media tanpa tambahan ZPT (kontrol). Pembentukan kalus dapat terjadi pada hampir semua eksplan yang diperlakukan dengan ZPT. Kalus yang terbentuk lebih besar pada perlakuan kombinasi B A dengan NAA atau 2,4-D dibandingkan dengan perlakuan hanya BA.

Ruas wiep dapat menghasilkan tunas baik pada kontrol maupun yang diperlakukan dengan ZPT. Kombinasi perlakuan ZPT B A dengan 2,4-D lebih baik dibandingkan dengan kombinasi antara BA dengan NAA dalam merangsang pembentukan tunas hipokotil wiep.

Eksplan hipokotil merupakan eksplan yang paling respon dalam pembentukan kalus, sedangkan eksplan ruas merupakan eksplan yang paling respon dalam pembentukan tunas. Ketiga macam eksplan tidak ada yang membentuk akar.

SARAN

Ruas merupakan pilihan material eksplan yang terbaik, dalam pembentukan tunas, sedangkan eksplan hipokotil merupakan eksplan terbaik untuk pembentukan kalus wiep. Perlu perlakuan auksin tersendiri setelah terbentuknya tunas dalam kultur, untuk merangsang pembentukan akar wiep.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dra. Sumarnie-H Priyono, yangtelah memberikan material biji wiep hingga dapat terlaksananya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Ben-Jaacov J and Dax E. 1981. *In Vitro* Propagation of *Grevillea rosmarinifolia*. *HortScience* 16,309-310.
- Bunn E and Dixon KW. 1992. *In Vitro* Propagation of the Rare and Engangered *Grevillea scapigera* (Proteacea). *HortScience* 27, 261-262.
- George EF. 1996. *Plant Propagation by Tissue Culture*. Part 2 In Practice. 2nd Edition. Exegetics Limited. Him 1361.
- Kepler AK. 1988. *Proteas in Hawaii*. Mutual Publishing, Honolulu, Hawaii. Him 80.
- Kunisaki JT. 1989. *In Vitro* Propagation of *Leucospermum* Hybrid 'Hawaii Gold'. *HortScience* 24, 686-687.

- Murashige T 1974.** Plant Propagation Through Tissue Cultures. *Annual Review of Plant Physiology* 25,135-166.
- Murashige T and Skoog F. 1962.** "A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures". *Physiologia Plantarum* 15, 473-497.
- Seelye JF. 1985.** Propagation of the N.S.W. Waratah (*Telopea speciosissima*) by Tissue Culture. *Combining Proceeding International of Plant Propagator Society* 34, 403-407.
- Skoog F and Miller CO. 1957.** Chemical Regulation of Growth and Organ Formation in Plant Tissues Cultured *In Vitro*. *Symposia of the Society for Experimental Biology* 11,118-140.
- Sumarnie-HP, Purwantoro RS, Syamsudin dan Solehudin. 2000.** Pengaruh Perendaman Air Kelapa Hijau dan Kinetin pada Pertumbuhan Biji *Grevilea papuana*. *Laporan Teknik. Bagian Proyek Pengembangan Potensi Flora dan Fauna di Irian Jaya*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Biologi, LIPI, Wamena, Him 24-30.
- Tal E, Ben-Jaacov J and Watad AA. 1992.** Hardening and *In Vivo* Establishment of Micropropagated *Gravillea* and *Leucospermum*. *Acta Horticulturae* 316, 63-67.
- Torres KC. 1989.** *Tissue Culture Techniques for Horticultural Crops*. Chapman & Hall, New York.
- Watad AA, Ben-Jaacov J, Tale, and Solomon H. 1992.** *In Vitro* Propagation of *Grevillea* species. *Acta Horticulturae* 316, 51-53.