

Persiapan Tanaman Donor Kultur Mikrospora Brokoli Kultivar BL 10001

Septarini Dian Anitasari
IKIP PGRI JEMBER; Jl. Jawa 10 Jember
Prodi Pendidikan Biologi, FPMIPA, IKIP PGRI Jember
e-mail: septarinidian@yahoo.co.id

Abstrak

Persiapan tanaman kultur mikrospora penting dilakukan untuk menghasilkan tahapan perkembangan mikrospora yang layak digunakan sebagai tanaman donor mikrospora. Tahap perkembangan mikrospora merupakan salah satu faktor yang menentukan keberhasilan kultur dalam menghasilkan embriogenesis mikrospora. Metode yang dilakukan yaitu perawatan kultivar BL 10001 pada suhu rendah pada greenhouse serta pengamatan mikrospora pada mikroskop. Hasil pengamatan dihitung menggunakan hemaecytomete kemudian data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif berdasarkan persentase tahapan perkembangan mikrospora. Hasil penelitian didapat bahwa tahapan mikrospora yang layak digunakan sebagai tanaman donor yaitu fase uninukleat pada kuncup ukuran 4 mm sebanyak 98%.

Kata kunci—kultur mikrospora, brokoli, uninukleat

PENDAHULUAN

Brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica* Plenck.) merupakan tanaman sayuran yang termasuk ke dalam suku Brassicaceae atau kubis-kubisan. Brokoli memiliki nilai gizi yang tinggi, kaya serat, dan mengandung senyawa isotiosianat yang memiliki aktivitas antikanker. Pangsa pasar brokoli di Indonesia dengan sasaran pasar modern meningkat 15-20% per tahun tetapi produktivitasnya masih sangat rendah[1]

Berdasarkan data tersebut penting dilakukan pemuliaan tanaman brokoli untuk memenuhi kebutuhan pasar akan sayur brokoli. Pemuliaan tanaman secara konvensional membutuhkan waktu beberapa generasi. Perkembangan teknologi yang semakin meningkat menghasilkan sistem pemuliaan tanaman yang membutuhkan waktu yang singkat. Salah satu teknik yang dapat diterapkan yaitu pemuliaan tanaman melalui kultur mikrospora. [2]Teknik ini akan menghasilkan galur murni yang hanya terbentuk dalam dua generasi penanaman. Galur murni tersebut digunakan sebagai populasi dasar bagi seleksi atau sebagai tetua bagi pembentukan varietas hibrida.

Tanaman galur murni yang dihasilkan dalam kultur mikrospora dapat bersifat haploid maupun secara spontan terbentuk menjadi *double haploid*; dengan adanya pengaruh dari berbagai perlakuan seperti kondisi tanaman donor, cara isolasi mikrospora dari kepala sari, stres fisiologi dan medium dengan suhu inkubasi. Faktor yang mempengaruhi embriogenesis pada kultur mikrospora yaitu tahap perkembangan mikrospora uninukleat yang terdapat pada kuncup tanaman donor [3]

Mikrospora adalah serbuk sari yang masih muda di dalam suatu tanaman, bila sudah dewasa serbuk sari berperan dalam penyerbukan. Jumlah mikrospora dalam satu kepala sari suatu tanaman sekitar 500-750 buah sebagai sumber eksplan yang menjanjikan [4]. Tahapan perkembangan mikrospora fase uninukleat didapat pada tanaman yang memiliki kondisi fisiologis yang sesuai untuk kultur mikrospora. Tahap perkembangan mikrospora merupakan salah satu faktor yang menentukan keberhasilan kultur. Kultur mikrospora berkaitan erat dengan embriogenesis mikrospora [5]. Untuk itu, dalam penelitian ini dilakukan persiapan tanaman donor kultur mikrospora untuk menghasilkan tanaman donor yang layak bagi kultur mikrospora brokoli kultivar BL 10001.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Greenhouse dan Laboratorium Kultur Jaringan PT BISI International TBK Februari- Agustus 2013.

Alat penelitian berupa mikroskop, cawan petri, botol jam, pinset, kaca objek dan penutup, *hemaeytometer*, *icebox* dan *ice gel*. Bahan tanaman yang digunakan yaitu kultivar brokoli BL 10001.

Teknik persiapan tanaman yaitu dengan mengkondisikan tanaman dalam *greenhouse* suhu 20-25°C. Benih disemai dalam media tanam butir sabut kelapa (*cocopeat*) selama 2 minggu dan dipindahkan ke media tanah apabila sudah muncul tiga kotiledon. Tanaman dirawat selama 3 bulan hingga berbunga dengan teknik penyiraman 2x sehari serta penambahan pupuk NPK pada tanaman. Bunga yang dipanen diamati tahap perkembangan mikrospora dari yang masih kuncup hingga yang sudah mekar. Kuncup dipanen pada *ice box* yang telah dilengkapi dengan *ice gel*.

Pengamatan ukuran kuncup dilakukan dengan menggunakan ujung bunga brokoli yang masih kuncup antara 1- 5 mm. Masing- masing kuncup diukur menggunakan penggaris. Kuncup dibelah menggunakan pinset kemudian diambil bagian anther. Anther diletakkan di atas gelas benda dan diberi aquadest 1 tetes. Anther diketuk- ketuk perlahan dengan pangkal pinset hingga mikrospora keluar kemudian diamati dibawah mikroskop untuk mempelajari tahapan perkembangan mikrospora pada masing- masing ukuran kuncup. Persentase kepadatan mikrospora uninukleat dihitung menggunakan *hemaeytometer*. Data dianalisis secara deskriptif berdasarkan persentase tahapan perkembangan mikrospora yang didapat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kondisi lingkungan, khususnya suhu biasanya mempengaruhi fisiologi tanaman donor dan sekaligus mempengaruhi potensial androgenik dalam isolasi mikrospora. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dengan mengkondisikan tanaman pada *greenhouse* didapat tahapan mikrospora yang layak dijadikan tanaman kultur mikrospora. Tanaman brokoli pada *greenhouse* dapat dipanen 90 hari setelah tanam. Setelah pemanenan dilakukan perhitungan tahapan perkembangan mikrospora.



Gambar 1. Bunga Brokoli umur 90 hari setelah tanam

Tabel 1. Persentase tahapan mikrospora pada tiap kuncup brokoli

Tahapan mikrospora	Sel induk mikrospora	dyad	tetrad	uninukleat
Kuncup 1 mm	75 %	10 %	15 %	-
Kuncup 2 mm	5 %	65%	30 %	-
Kuncup 3 mm	-	15%	40%	45%
Kuncup 4 mm	-	-	2 %	98 %
Bunga mekar	-	-	-	-

Tahap perkembangan mikrospora merupakan titik kritis penting dalam kultur mikrospora. Pada banyak protokol kultur mikrospora, tahap perkembangan mikrospora diamati pada awal penelitian. Hal ini dikarenakan respon terhadap kultur mikrospora terjadi pada tahap perkembangan mikrospora tertentu [6].

Berdasarkan Tabel 1. diketahui bahwa tahapan perkembangan mikrospora terbanyak pada masing-masing ukuran kuncup brokoli yaitu pada ukuran kuncup 1 mm terdapat fase sel induk mikrospora sebanyak 75%. Fase dyad terbanyak yaitu 65 % pada ukuran 2 mm, fase tetrad terbanyak pada kuncup ukuran 3 mm sekitar 45% serta fase uninukleat terbanyak pada ukuran kuncup 4 mm yaitu 98 %. Hal ini sesuai dengan pernyataan penelitian terdahulu [7] bahwa perbedaan ukuran kuncup mengindikasikan adanya perbedaan tahap perkembangan mikrospora yang terkandung dalam kuncup mikrospora tersebut.

Berdasarkan tahap perkembangannya mikrospora terbentuk di dalam anther yang disebut mikrosporogenesis. Mikrosporogenesis diawali dengan adanya pembelahan meiosis I pada sel induk mikrospora yang bersifat diploid (mikrosporosit) menghasilkan sepasang sel haploid (dyad). Pembelahan meiosis II menghasilkan empat sel mikrospora haploid yang berlekatan menjadi satu (tetrad). Masing-masing sel pada tetrad memisahkan diri kemudian membentuk empat buah sel mikrospora dengan satu inti (mikrospora uninukleat) [8].

Dalam penelitian ini ukuran kuncup berkorelasi dengan perkembangan mikrospora didalamnya. Tahapan mikrospora berbeda antara tanaman satu dengan yang lain. Semakin besar ukuran kuncup brokoli maka semakin berkembang fase didalamnya (Tabel 1).

Pada *Brassica napus*, frekuensi embrogenesis tertinggi terjadi ketika mikrospora dikulturkan pada fase uninukleat [9]. Mikrospora *Brassica* responsif terhadap kultur hanya pada tahapan yang bervariasi antara awal uninukleat sampai awal binukleat [10]. Dalam penelitian ini mikrospora uninukleat terbanyak yaitu pada ukuran 4 mm sehingga ukuran tersebut dijadikan patokan dasar bagi kultur mikrospora brokoli pada kultivar BL 10001.

SIMPULAN

Tahapan perkembangan mikrospora pada kultivar BL 10001 ukuran 1 mm sampai 4 mm terdiri atas fase sel induk mikrospora, dyad, tetrad serta uninukleat. Tahapan yang layak digunakan sebagai tanaman donor pada kultivar BL 10001 yaitu fase uninukleat pada kuncup ukuran 4 mm sebanyak 98%.

SARAN

Persiapan bahan tanaman merupakan salah satu faktor penting yang mempengaruhi keberhasilan kultur mikrospora. Untuk itu perlu memperhatikan faktor lain sebelum melakukan teknik kultur mikrospora seperti stres perlakuan serta modifikasi media kultur.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih PT BISI International TBK atas Fasilitas untuk pelaksanaan penelitian serta Ir. Ida Ayu Astarini, M.Sc., Ph.D sebagai pembimbing dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Raleni, N., Defiani, M dan Astarini, I. 2015. *Pertumbuhan vegetatif dan produktivitas berbagai kultivar brokoli (brassica oleracea l. Var. Italica plenck.) Introduksi di desa batur, kecamatan kintamani, kabupaten bangli, bali*. Jurnal Metamorfosa II (2): 90-97.
- [2] Suaib dan Arma, J. 2012. *Pengembangan Kultur Mikrospora pada Varietas Padi Ladang Persiapan Tanaman Donor Kultur Mikrospora Brokoli Kultivar BL 10001* (Septarini Dian Anitasari)

Lokal Asal Kendari Development of Microspore Culture of Local Upland Rice Varieties from Kendari. J. Agron. Indonesia 40 (2) : 99 – 104

- [3] Abraha, E., Bechyne, M., Klima, M dan Vyvadillova, M. 2008. *Analysis Of Factors Affecting Embryogenesis In Microspore Cultures Of Brassica Carinata*. *Agricultura Tropica Et Subtropica* 41 (2).
- [4] Santosa, D. 2010. *Propagasi Tumbuhan Obat Dengan Kultur Mikrospora Medicinal Plant Propagation By Microspores Culture*. *Traditional Medicine Journal*.
- [5] Suaib, M., Mirzawan, P dan Indrianto, A. 2007. *Proporsi Mikrospora Uninucleat pada Empat Klon Tebu (Saccharum spp)*. *Berkala Penelitian Hayati* 12: 145-152.
- [6] Reed, S. 2005. *Haploid culture*. naldc.nal.usda.gov. Diakses pada 16 Januari 2016.
- [7] Winarto, B dan Silva, J. 2011. *Microspore culture protocol for Indonesian Brassica oleracea*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 107: 305-315.
- [8] Susan, L dan William, D. 2007. *Genetika*. Damaring (Pentj). Indonesia: Penerbit Erlangga.
- [9] Cousin, A., Heel, K., Cowling, W. dan Nelson, M. 2009. *An Efficient High-throughput Flow Cytometric Method for Estimating DNA Ploidy Level in Plants*. *ISAC: Cytometry Part A* 75A: 1015-1019.
- [10] Babbar, S., Agarwal, P., Sahay, S dan Bhojwani, S. 2004. *Isolated Microspore Culture Of Brassica: An experimental Tool For Developmental Studies And Crop Improvement*. *Indian Journal of Biotechnology* 3: 185-202.