

Kultur *In Vitro* Biji Duku

Triatminingsih, R., Karsinah, H. Subakti, dan I. Fitrianiingsih

Balai Penelitian Tanaman Buah Jl. Raya Solok-Aripan km 8, Solok ,27301

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Balai Penelitian Tanaman Buah Solok, dari bulan Juli sampai dengan Desember 1999. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui kombinasi benzil amino purin dan naftalen asam asetat yang cocok untuk pertumbuhan biji duku secara *in vitro*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa media yang cocok untuk tahap inisiasi kultur eksplan biji adalah WPM+0,5 ppm BAP tanpa NAA selama satu minggu, kemudian untuk tahap multiplikasinya adalah media WPM + 1 ppm BAP tanpa NAA. Jumlah tunas per biji terbanyak 6,67 tunas dan tunas terpanjang $5,4 \pm 0,2449$ cm. Media subkultur selanjutnya adalah WPM + 0,5 ppm BAP+0,1 ppm NAA. Jumlah akar terbanyak adalah 20,33 buah terjadi pada media WPM+2 ppm BAP+0,2 ppm NAA.

Kata kunci : *Lancium domesticum*; Eksplan; Media; Pertumbuhan tunas.

ABSTRACT. Triatminingsih, R., Karsinah, H. Subakti, and I. Fitrianiingsih. 2003. *In vitro* culture of langzone seeds. This experiment was conducted at the tissue culture laboratory of Indonesian Fruits Research Institute at Solok, from July to December 1999. The objective of this experiment was to find out suitable medium for growing langzone explants. The results indicated that a suitable media for growth of seed explant on the initiation stage was WPM + 0.5 ppm BAP without NAA during one week and subculture medium for multiplication stage was WPM + 1 ppm BAP without NAA. Highest number of adventitious shoot and shoot length were 6.67 and 5.4 ± 0.2449 cm, respectively. The use of 0.5 ppm of BAP associated with 0.1 ppm of NAA was essential for obtaining the vigor plantlets. Maximum root number, 20,33 were obtained on media WPM + 2 ppm BAP + 0.2 ppm NAA.

Keywords : *Lancium domesticum*; Explants; Medium; Flushing growth

Kontribusi buah duku (*Lancium domesticum* L.), terhadap ekspor buah tahun 1990-an menduduki tempat ketiga setelah mangga dan manggis (Untung 1992). Pertanaman duku yang ada sekarang ini merupakan peninggalan nenek moyang yang memerlukan perhatian untuk peremajaan dan pengembangannya. Menurut Syahrul (1989), masalah pokok yang perlu mendapat perhatian dalam upaya melestarikan potensi produksi duku dan kemungkinan usaha pengembangannya adalah masih sedikit atau belum adanya usaha pengadaan bibit yang memenuhi syarat.

Untuk pengembangan duku diperlukan bibit bermutu dalam jumlah yang banyak dan seragam. Pengadaan batang bawah duku selama ini adalah dari biji, sehingga bergantung pada musim buah atau adanya *seedling* yang tumbuh secara kebetulan di sekitar pohon yang telah berproduksi. Materi batang bawah yang dibutuhkan untuk pengadaan bibit melalui *grafting* dalam jumlah yang banyak akan dibutuhkan bahan yang banyak pula. Di samping itu, dengan harga buah duku yang semakin mahal dan mungkin akan semakin langka karena digantikan duku tanpa biji yang semakin banyak disukai maka makin sulit mendapatkan biji duku, sehingga perlu diupayakan pengadaan bibit duku yang tidak melupakan pelestarian pohon induk.

Teknik perbanyakan *in vitro* adalah metode perbanyakan yang tidak merusak pohon induk dan tidak bergantung musim.

Keberhasilan teknologi mikropropagasi *in vitro* dipengaruhi antara lain oleh eksplan yang digunakan (Wainwright & Harwood 1985) dan komposisi media (Gamborg & Shyluk 1981). Pada dasarnya semua bagian tanaman dapat diregenerasikan menjadi tanaman sempurna apabila ditumbuhkan pada media yang sesuai. Namun tidak semua bagian tanaman sama mudahnya untuk diregenerasikan. Oleh karena itu perlu diketahui dan dipilih bagian tanaman yang mudah untuk ditumbuhkan (Lindsey & Jones 1990). Komposisi media tersebut meliputi kandungan nutrisi, zat pengatur tumbuh (ZPT) vitamin, dan gula.

Zat pengatur tumbuh yang sering digunakan untuk propagasi *in vitro* adalah kelompok sitokinin dan auksin. Benzil-amino purin (BAP) merupakan kelompok sitokinin turunan adenin paling aktif dalam proses pembelahan sel (Wattimena 1987). Lebih ditegaskan lagi oleh Nurita-Toruan (1990) bahwa BAP adalah kelompok sitokinin yang paling efektif dalam memacu pembentukan tunas. Selanjutnya Bon & Berthon (1987) berpendapat bahwa penambahan NAA 0,1 mg/l pada media dasar dapat memacu

inisiasi eksplan *Sequidendron giganteum* dari pada tanpa NAA. Hasil penelitian manggis di Balai Penelitian Tanaman Buah Solok dapat terbentuk $5,6 \pm 2,8$ tunas tiap kotiledon yang dibelah dua pada subkultur yang pertama pada media WPM + 2 ppm BAP + 0,2 ppm NAA. Dan pada eksplan batang muda manggis ukuran 1 cm terbentuk 5,4 tunas pada media yang sama (Triatminingsih *et al.* 1994) sementara ini perbanyak duku secara *in vitro* belum banyak dilakukan. Diduga penambahan NAA dan BAP akan memberikan respons pertumbuhan yang berbeda-beda.

Berdasarkan permasalahan tersebut di atas maka diteliti pertumbuhan biji duku secara *in vitro*. Tujuan dari penelitian ini adalah mendapatkan konsentrasi BAP dan NAA yang cocok untuk pertumbuhan eksplan duku.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan dari bulan Juli sampai dengan Desember 1999, di Laboratorium Kultur Jaringan Balai Penelitian Tanaman Buah Solok. Eksplan yang digunakan adalah biji duku jambi. Biji dipilih dari buah yang besar dan dipanen dari satu pohon. Biji dikeluarkan dari buah, disterilisasi, dan kemudian ditanam pada media yang telah dipersiapkan sesuai perlakuan. Sterilisasi menggunakan HgCl₂ 0,2% selama lima menit kemudian dicuci dengan aquades steril 3-5 kali. Setelah itu direndam dalam asam askorbat 0,1% selama lima menit.

Penelitian ini terdiri atas sembilan perlakuan yang merupakan kombinasi dari tiga level konsentrasi BAP (0,5; 1; dan 2 ppm) dengan tiga level auksin NAA (0; 0,1; dan 0,2 ppm). Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap dengan ulangan sebanyak tiga kali setiap ulangan terdiri atas 4-7 botol/eksplan.

Eksplan biji yang telah pecah disubkultur ke media yang sama. Parameter yang diamati adalah saat biji tumbuh, saat biji bertunas, jumlah tunas, dan jumlah eksplan yang bertunas. Pada akhir penelitian diamati jumlah akar, panjang tunas, dan panjang akar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil pengamatan dapat dilihat bahwa sebagian biji tumbuh pada minggu pertama dan yang paling lama tumbuh terjadi pada perlakuan 2 ppm BAP tanpa NAA. Biji tumbuh pada minggu pertama terjadi pada perlakuan media yang diperkaya dengan 0,5 dan 1 ppm BAP. Bila media diperkaya dengan 0,1 ppm NAA, maka penambahan 2 ppm BAP dapat mencapai saat tumbuh pada minggu ke-1. Walaupun terdapat empat perlakuan yang saat tumbuhnya sama pada minggu ke-1, namun saat bertunas, persentase biji yang bertunas berbeda-beda bergantung pada perbandingan BAP dan NAA yang diberikan pada media tersebut. Nampak di sini bahwa konsentrasi BAP yang tinggi berpengaruh terhadap pertumbuhan biji duku.

Tabel 1. Saat biji tumbuh, saat biji bertunas dan persentase biji yang bertunas pada berbagai BAP dan NAA minggu ke-8. (*The day of seeds growth, shoot growth and percentage of shoot growth on various BAP and NAA concentration at eight weeks*)

Penambahan ZPT (Hormone application)		Saat biji tumbuh (Time of seed germinated)	Saat biji bertunas (Time of seed growth)	Biji yang bertunas, pada minggu ke-8 (Seed growth at eight weeks)
BAP	NAA			
..... ppm	minggu ke (at week)	minggu ke (at week)	%
0,5	0	1	5	37,5 a
1,0	0	1	2	41,7 a
2,0	0	4	7	25,0 bc
0,5	0,1	3	8	25,0 bc
1,0	0,1	3	8	20,0 c
2,0	0,1	1	7	26,7 bc
0,5	0,2	3	*)	0,0 d
1,0	0,2	1	6	35,0 ab
2,0	0,2	2	7	24,3 bc

Angka pada kolom yang sama diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf BNT 5% (*Means in the same column followed by the same letters are not significantly different at 5% of BNT*)

Tabel 2. Persentase tumbuh biji duku pada pengamatan minggu pertama, ketiga, kelima, dan saat biji tumbuh (*The percentage of seed growth at 1, 3, 5 weeks after culturing and at the day of seed growth*)

BAP	NAA	Persentase tumbuh pada minggu ke (<i>Percentage of seed growth at weeks</i>)			Saat biji tumbuh minggu ke (<i>Time of seed growth at weeks..</i>)
		1	3	5	
.....ppm.....					
0,5	0	75,0 a	87,5 a	75,0 a	1
1,0	0	54,2 bc	87,5 a	87,5 a	1
2,0	0	25,0 e	35,0 d	62,5 cd	4
0,5	0,1	25,0 e	53,4 bc	75,0 ab	3
1,0	0,1	32,5 de	42,5 cd	50,0 d	3
2,0	0,1	63,4 ab	73,4 a	73,4 abc	1
0,5	0,2	46,7 cd	56,7 bc	73,4 abc	3
1,0	0,2	52,5 bcd	65,0 ab	65,5 bcd	1
2,0	0,2	38,6 cd	65,7 ab	75,7 abc	2

Lihat Tabel 1 (*See Table 1*)

Hasil pengamatan pertumbuhan dapat dilihat pada Tabel 1. Konsentrasi BAP yang tinggi tersebut akan dinetralkan pengaruhnya terhadap pemecahan sel dengan adanya NAA (auksin). Seperti yang dikemukakan oleh (Nurhadi 1987; George & Sherrington 1994) bahwa keseimbangan konsentrasi auksin dan sitokinin berpengaruh terhadap pertumbuhan eksplan. Persentase biji yang bertunas pada minggu ke-8 tertinggi terjadi pada perlakuan media yang diperkaya dengan 1 ppm BAP yaitu sebesar 41,7%. Dan berbeda nyata dengan persentase biji bertunas pada perlakuan 2 ppm BAP.

Pada perlakuan penambahan NAA ternyata berpengaruh negatif terhadap persentase biji tumbuh (Tabel 2). Pada minggu ketiga, biji yang tumbuh pada perlakuan 0,2 ppm NAA + 0,5 ppm BAP sebanyak 56,7%, berbeda nyata dengan perlakuan 0,5 ppm BAP tanpa NAA. Saat tumbuh

biji pada minggu kesatu terjadi pada empat macam perlakuan.

Biji yang saat tumbuhnya paling lambat terjadi pada perlakuan 2 ppm BAP tanpa penambahan auksin. Perbandingan konsentrasi auksin dan sitokinin dalam media dasar akan mempengaruhi arah organogenesis eksplan yang dikulturkan secara *in vitro* (Tisserat 1985; Noerhadi 1988; Lemos & Blake 1996). Dikatakan bahwa aktivitas auksin eksogen dipengaruhi oleh keberadaan sitokinin dan auksin endogen.

Dengan adanya auksin dalam konsentrasi rendah akan meningkatkan aktivitas sitokinin yang ada dalam media (George & Sherrington 1984) sehingga biji cepat tumbuh. Bila perlakuan 2 ppm BAP dikombinasikan dengan 0,1 ppm NAA ternyata saat bertunas menjadi lambat, yaitu pada minggu ke-7 dan biji bertunas sampai

Tabel 3. Persentase biji bertunas pada minggu pertama, keenam, kedelapan, dan saat biji bertunas pada berbagai konsentrasi BAP dan NAA (*Percentage of shoot growth at 1, 6, 8 weeks after culturing and at the day of shoot growth*)

BAP ppm	NAA ppm	Persentase biji bertunas pada minggu ke (<i>Percentage of shoot growth at weeks..</i>)			Saat biji bertunas minggu ke (<i>Time of shoot growth at weeks..</i>)
		1	6	8	
0,5	0	12,5 a	25 ab	37,5 ab	5
1,0	0	16,7 a	41,7 a	41,7 a	2
2,0	0	0 b	12,5 b	25 bc	7
0,5	0,1	8,4 a	16,7 b	25 bc	8
1,0	0,1	0 b	0 c	20 c	8
2,0	0,1	0 b	18,4 b	26,7 abc	7
0,5	0,2	0 b	0,0 c	0,0 d	*)
1,0	0,2	0 b	22,5 ab	35 ab	6
2,0	0,2	0 b	17,2 b	24,3 bc	7

Lihat Tabel 1 (*See Table 1*)

Tabel 4. Jumlah tunas, panjang tunas, dan panjang akar pada beberapa konsentrasi BAP dan NAA pengamatan terakhir (*Shoot length, shoot number, and root length on various of BAP and NAA concentration at the last observation*)

BAP ppm	NAA ppm	Panjang akar (Root length) cm	Panjang tunas (Shoot length) cm	Jumlah (Number)		Saat biji bertunas minggu ke... (Time of seed growth at weeks....)
				Tunas (Shoot)	Akar (Root)	
0,5	0,0	2,5 ± 12615 c	5,4 ± 0,2449 a	5,00 b	6,00 c	5
1,0	0,0	1,5 ± 0,4995 d	4,1 ± 0,4325 c	4,00 c	3,00 ef	2
2,0	0,0	1,45 ± 0,5500 d	2,1 ± 0,5800 c	6,30 a	2,33 f	7
0,5	0,1	7,3 ± 2,2336 a	4,7 ± 0,7838 b	4,67 bc	5,00 d	8
1,0	0,1	2,7 ± 2,1667 c	3 ± 0 d	1,33 d	3,33 e	8
2,0	0,1	0,7 ± 0 d	0 g	0,00 d	1,00 g	7
0,5	0,2	0 e	0 g	0,00 d	1,33 g	*)
1,0	0,2	5,1 ± 0,6610 b	0,5 ± 0 g	1,00 d	11,00 b	6
2,0	0,2	5,2 ± 0,6921 b	1,1 ± 0,2447 f	7,00 d	20,33 a	7

Lihat Tabel 1 (See Table 1)

tercepat belum tentu menampilkan keragaan tunas yang baik. Keragaan tunas tersebut perlu diperhatikan sebab akan mempengaruhi keberhasilan aklimatisasi (Guimaraes *et al.* 1987). Bahkan perlu diperhatikan bahwa calon tunas daun akan tumbuh kuat, tegar, dan sempurna dengan adanya konsentrasi BAP yang optimum.

Bila dilihat pertumbuhan tunas, maupun panjang tunas pada pengamatan terakhir (Tabel 4), tunas terpanjang rata-rata 5,4 cm dan jumlah tunas terbanyak 6,67, berturut-turut terjadi pada perlakuan 0,5 ppm BAP tanpa NAA dan 2 ppm BAP + 0,2 ppm NAA. Akar terpanjang rata-rata adalah 7,3 cm terjadi pada perlakuan 0,5 ppm BAP + 0,1 ppm NAA. Sedangkan jumlah akar terbanyak 20,33 buah terjadi pada perlakuan 2 ppm BAP + 0,2 ppm NAA, namun rata-rata tinggi tanaman hanya 1,1 cm. Sedangkan apabila dilihat dari keragaan tunas, ternyata perlakuan 0,5 ppm BAP tanpa penambahan auksin menunjukkan keragaan tunas terbaik (Gambar 1). Tinggi tanaman yang tertinggi tidak selalu mempunyai hubungan yang positif dengan pembentukan akar. Melihat hasil penelitian awal kultur *in vitro* duku ini, di mana persentase tumbuh, persentase bertunas, saat tumbuh, saat bertunas, jumlah tunas, jumlah akar, dan keragaan tunas terbaik terjadi pada perlakuan yang berbeda-beda, maka dapat diketahui bahwa komposisi media subkultur dan saat subkultur yang tepat berbeda dengan media awal penanaman. Media subkultur yang tepat sangat diperlukan untuk mendapatkan

Gambar 1. Keragaan tunas duku pada media WPM + 0,5 ppm BAP + 0,1 ppm NAA (*Shoot performance at medium of WPM + 0,5 ppm BAP + 0,1 ppm NAA*)

akhir pengamatan hanya 26,7%. Demikian pula apabila konsentrasi BAP diturunkan menjadi 1 atau 0,5 ppm, maka saat bertunasnya tetap lambat (Tabel 3).

Apabila dicermati data Tabel 1, ternyata persentase biji tumbuh yang besar belum tentu bertunas semuanya. Selanjutnya apabila dilihat dari keragaan tunas, ternyata saat bertunas

plantlet yang diinginkan baik jumlah maupun keragaannya.

Media subkultur yang mempunyai perbandingan konsentrasi sitokinin dan auksin berbeda atau sama, sangat diperlukan pada teknik kultur *in vitro* (George & Sherrington 1984; Mariska et al. 1987). Pada hasil penelitian kultur *in vitro* manggis terbukti bahwa untuk mendapatkan keragaan tunas yang baik diperlukan media subkultur yang mempunyai konsentrasi BAP lebih rendah daripada media multiplikasi (Goh et al. 1988, Triatminingsih et al. 1994).

KESIMPULAN

1. Biji sudah tumbuh pada umur satu minggu setelah tanam di media perlakuan.
2. Media subkultur untuk mendapatkan biji bertunas banyak adalah media WPM + 2 ppm BAP + 0,2 ppm NAA dengan jumlah tunas 6,67 pucuk per biji.
3. Media subkultur untuk mendapatkan keragaan tunas terbaik adalah WPM + 0,5 ppm BAP tanpa atau ditambah dengan 0,1 ppm NAA.

PUSTAKA

1. Bon, M.C. and J.Y. Berthon. 1987. Micropropagation aspect of *Sequoiadendron giganteum* Juvenil and mature clone. In vitro problems related to mass propagation. *Acta Hortic.* 212:489-497.
2. Gamborg, O.G and J.P. Shyluk. 1981. Nutrition media and characteristic of plant cell and tissue culture. In Thorpe, T.A (Ed). *Plant tissue culture: Method and application in agriculture.* Academic Press. NewYork. p. 21-44.
3. George, E.F.,and P.D.Sherrington.1984. *Plant growth regulators in Plant propagation by tissue culture.* p. 284-330.

4. Guimaraes, M.L., M.C. Pimenta, and J. Montezuma-de-Carvalho. 1987. Problem of soil adaptation in plantlets of (*Coffea arabica* L.) obtained via somatic embryogenesis. *Acta Hortic.* 212:315-321.
5. Lemos. E. E. P.,and J. Blake. 1996. Micropropagation of juvenile and mature *Annona muricata* L. *J. Hort. Sci.* 71(3):395-403.
6. Lindsey, K. and M.G.K. Jones. 1990. *Plant biotechnology in agriculture.* Prentice Hall Englewood Cliffs, New Jersey. 241 p.
7. Mariska, I., E. Gati, dan D. Sukmadjaja. 1987. Multiplikasi tunas tanaman mentha melalui kultur *in vitro.* *Pembr. Bitri.* XII3(3-4):80-81.
8. Noerhadi, E. 1988. Potensi dan prospek kultur jaringan dibidang pertanian. Makalah pada seminar kultur jaringan. Pusat Penelitian Perkebunan Bogor. 18 hal.
9. Nurita Toruan, M. 1990. Perbanyak tanaman kopi Arabika (*Coffea arabica* L.) dengan kultur jaringan. Puslitbun Bogor. 18 hal.
10. Syahrul, E. 1989. *Laporan penelitian eksplorasi duku di Sumatera Selatan.* Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya. 101 hal.
11. Tisserat. B. 1985. Embryogenesis, organogenesis and plant regeneration in dixon. R.A.: *Plant cell culture a practical approach.* IRL Press Oxford Washington DC. P. 79-126.
12. Triatminingsih, R., Karsinah, dan E. Nazir. 1994. Micropropagasi tanaman manggis secara *in vitro*: Pertumbuhan dan perkembangan beberapa macam eksplan manggis (*Garcinia mangostana* L.) *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Bioteknologi II di Cibinong-Bogor, September 1994.* hal. 84-90.
13. Untung, O, 1992. Mangga, manggis dan duku paling banyak diekspor. *Trubus.* XXIII:24-25.
14. Wainwright, H. and A. C. Harwood. 1985. *In vitro* organogenesis and plant regeneration of *Cyclamen persicum* Mill. Using seedling tissue. *J. Hort. Sci.* 60(3):397-403.
15. Wattimena, G.A. 1987. *Zat pengatur tumbuh.* Diklat kuliah. IPB Bogor. 657hal.
16. _____. 1988. Peranan kultur jaringan dalam mempertinggi produksi pertanian di Indonesia. Makalah pada seminar kultur jaringan di Malang 12 April 1988. 12 hal.