

APLIKASI TEKNIK KULTUR JARINGAN PADA PERBANYAKAN TANAMAN KAYU MANIS (*Cinnamomum burmannii* Bl.).

[THE APPLICATION OF PLANT TISSUE CULTURE TECHNIQUE ON THE PROPAGATION OF
CASSIAVERA (*Cinnamomum burmannii* Bl.)]

Eliyanti, Zulkarnain, Nyimas Myrna, E.F.¹

Abstract

This experiment was conducted at the Plant Tissue Culture Laboratory, Agricultural Faculty Unja, from September until December 1995. Three chemicals tested were Ca-hypochlorite, Na-hypochlorite and HgCl₂ which were applied in 4 concentration levels, ie. 0.1, 0.5, 1.0 and 5.0%, and combined with 3 periods of explant dipping, ie. 10, 20 and 30 minutes. In addition to this, the media composition tested were MS, MS½, WPM, B-5, LS and SH. The result indicated that 0.1, 0.5 and 1.0% Ca-hypochlorite combined with 10, 20 and 30 minutes dipping resulted in better effect than 5.0% Ca-hypochlorite combined with 10, 20 and 30 minutes dipping. Furthermore, the 0.1% Na-hypochlorite combined with 30 minutes dipping resulted in better effect than 1.0% Na-hypochlorite+30 minutes dipping and 5.0% Na-hypochlorite+10, 20 and 30 minutes dipping. Among the tested media composition, the basal media MS and WPM produced better effect than MS½, B-5, LS and SH on the percentage of callus formation.

Pendahuluan

Kayu manis (*Cinnamomum burmannii* Bl.) adalah salah satu komoditas industri andalan yang sangat potensial bagi Propinsi Jambi. Kulit dan hasil olahan tanaman ini banyak dimanfaatkan dalam industri makanan, minuman, kosmetika dan rokok.

Guna menunjang kedudukan kayu manis sebagai penghasil devisa negara, maka pemerintah melalui Departemen Pertanian Direktorat Jenderal Perkebunan memproyeksikan perluasan areal tanam seluas 5.000ha per tahun di daerah-daerah sentra produksi Sumatera Utara, Sumatera Barat, dan Jambi (Rismunandar, 1989). Dengan luas areal pertanaman pada tahun 1994 yang mencapai 57,887ha, diperkirakan kebutuhan bibit tanaman ini untuk Propinsi Jambi tidak kurang dari 9,044,843 batang. Jumlah ini akan semakin meningkat pada tahun-tahun mendatang sebagai konsekuensi dari program ekstensifikasi yang dilancarkan. Kebutuhan ini akan sulit dicapai pemenuhannya apabila digunakan metoda perbanyakan secara vegetatif konvensional menggunakan setek. Sementara itu perbanyakan secara generatif dihadapkan pada kendala cepat

turunnya daya kecambah biji, di samping waktu yang dibutuhkan untuk perkecambahan biji juga relatif lama, yakni 1 - 2 bulan (Rismunandar, 1989).

Suatu metoda perbanyakan yang dapat ditempuh dalam upaya memenuhi kebutuhan bibit kayu manis adalah teknik kultur jaringan tanaman. Melalui cara ini sejumlah besar tanaman dapat dihasilkan dalam tempo yang relatif singkat dengan hanya menggunakan sejumlah kecil bahan tanaman awal.

Sejumlah tanaman industri telah berhasil diperbanyak melalui teknik kultur jaringan antara lain: *Pelargonium* (Qureshi dan Saxena, 1992), *Mentha piperita* (Eck and Kitto, 1992) dan *Lavandula latifolia* (Mensuali-Sodi *et al.*, 1993). Sementara itu terhadap kayu manis tidak banyak dijumpai literatur mengenai aplikasi teknik ini.

Dengan berhasilnya aplikasi teknik kultur jaringan pada sejumlah komoditas industri, maka diduga teknik ini juga memberikan keuntungan bagi perbanyakan massal secara cepat pada tanaman kayu manis. Untuk itu suatu penelitian sangat perlu dilaksanakan guna mempelajari faktor-faktor yang menentukan keberhasilan aplikasi teknik ini pada tanaman kayu manis.

Bahan dan metoda

Percobaan-1

Percobaan-1 adalah pengujian terhadap berbagai bahan sterilisasi eksplan. Bahan tanaman yang digunakan adalah pucuk tanaman kayu manis yang diambil dari bibit di lapangan. Untuk memperkecil tingkat kontaminasi, maka bibit tersebut terlebih dahulu diperlakukan dengan 0,5g/L Benlate seminggu sekali selama 2 bulan.

Bahan sterilisasi yang diuji adalah Na-hipoklorit, Ca-hipoklorit dan HgCl₂ dengan tingkat konsentrasi masing-masing 0,1, 0,5, 1,0 dan 5,0% dan lama waktu perendaman 10, 20 dan 30 menit.

Sebagai bahan eksplan adalah potongan nodus tunggal yang diambil dari pucuk-pucuk muda. Pucuk dengan 2 - 3 tunas aksilar yang masih dalam keadaan dorman diambil dari tanaman induk. Pucuk tersebut kemudian direndam dan dikocok selama 10 menit di dalam larutan 2 tetes Tween-20 per 100mL air steril. Kemudian dibilas dengan air steril sampai tidak ada lagi sisa-sisa deterjen pada permukaan pucuk tersebut. Selanjutnya pucuk tadi direndam di dalam tiga macam larutan bahan sterilisasi yang telah disiapkan untuk masing-masing konsentrasi, selama 10, 20 dan 30 menit. Kemudian dibilas dengan air steril sampai bersih.

Di dalam *laminar air flow cabinet*, eksplan dipotong kira-kira 1cm dengan nodus berada di bagian tengah, lalu dikeringkan pada kertas saring steril. Kemudian eksplan tadi ditanamkan pada medium prekondisi yang terdiri atas agar 0,7% dan sukrosa 3,0%.

Untuk melihat perkembangan kultur, eksplan yang sudah ditanamkan tadi ditempatkan di dalam ruang kultur pada suhu 25 - 26°C dan fotoperiodesitas 16 jam/hari selama 30 hari.

Parameter-parameter yang diamati adalah: 1) persentase eksplan yang tidak mengalami kontaminasi dan tidak mati (sehat), dan 2) lamanya gejala kontaminasi mulai nampak (dalam hari).

Percobaan-2

Percobaan-2 adalah pengujian terhadap berbagai komposisi medium dasar. Komposisi media dasar yang dicobakan adalah MS dan MS^{1/2} (Murashige

dan Skoog, 1962), Woody Plant Medium (Lloyd dan McCown, 1980), B-5 (Gamborg *et al.*, 1968), LS (Linsmaier and Skoog, 1965), dan SH (Schenk and Hildebrandt, 1972). Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 10 kali.

Bahan eksplan yang digunakan pada Percobaan-2 sama seperti pada Percobaan-1, yakni potongan nodus tunggal yang berasal dari pucuk muda.

Untuk membersihkan bahan eksplan dari kontaminasi jamur dan bakteri, dilakukan prosedur sterilisasi terbaik yang diperoleh pada Percobaan-1, yakni menggunakan Na-hipoklorit 0,1% dengan lama perendaman 30 menit.

Di dalam *laminar air flow cabinet*, eksplan dipotong kira-kira 1cm dengan nodus berada di bagian tengah. Setelah dikeringkan pada sehelai kertas saring steril, eksplan tersebut ditanamkan pada 6 media dasar yang akan diuji.

Sebagaimana pada Percobaan-1, penempatan unit-unit percobaan pada percobaan-2 juga didasarkan atas Rancangan Acak Lengkap. Analisis keragaman terhadap semua parameter dilakukan dengan bantuan komputer dan dilakukan uji perbandingan berganda *Studentized Range Method* untuk melihat pengaruh antar perlakuan.

Respon eksplan terhadap berbagai komposisi media yang dicobakan diamati selama 90 hari percobaan, dengan proliferasi kalus sebagai parameter.

Hasil pengamatan

Hasil pengamatan pada Percobaan-1 memperlihatkan, bahwa HgCl₂ ternyata tidak efektif untuk digunakan sebagai bahan sterilisasi eksplan. Hal ini terlihat pada kondisi eksplan yang semuanya mengalami pencoklatan (*browning*) dan mati. Sementara itu pada perlakuan Ca- dan Na-hipoklorit yang dikombinasikan dengan lama periode perendaman diperoleh hasil yang tidak berbeda nyata, sebagaimana disajikan pada Tabel 1 dan 2.

Dari eksplan yang mengalami kontaminasi pada perlakuan Ca- dan Na-hipoklorit terungkap, bahwa lama periode sejak penanaman sampai mulai nampak gejala kontaminasi adalah berkisar antara 4 hingga 10 hari.

Hasil pengamatan yang diperoleh disajikan pada Tabel 1, 2 dan 3.

Tabel 1 memperlihatkan, bahwa perlakuan-perlakuan 0,1% Ca-hipoklorit+10, 20 dan 30 menit perendaman, 0,5% Ca-hipoklorit+10, 20 dan 30 menit perendaman dan 1,0% Ca-hipoklorit+10, 20 dan 30 menit perendaman berbeda nyata terhadap perlakuan-perlakuan 5,0% Ca-hipoklorit+10, 20 dan 30 menit perendaman. Sementara itu antar perlakuan 0,1% Ca-hipoklorit+10, 20 dan 30 menit perendaman, 0,5% Ca-hipoklorit+10, 20 dan 30 menit perendaman dan 1,0% Ca-hipoklorit+10, 20 dan 30 menit perendaman tidak memperlihatkan perbedaan yang nyata.

Tabel 2 menunjukkan, bahwa perlakuan 0,1% Na-hipo.+30 menit perendaman berbeda nyata terhadap perlakuan-perlakuan 1,0% Na-hipo.+30 menit perendaman dan 5,0% Na-hipo.+10, 20 dan 30 menit perendaman.

Sementara itu pada Percobaan-2 didapatkan, bahwa hanya eksplan yang dikulturkan pada media MS dan WPM yang memperlihatkan adanya respon pertumbuhan. Sedangkan eksplan yang dikulturkan pada media lain tidak menunjukkan respon hingga akhir masa percobaan. Respon yang diperlihatkan adalah terjadinya pembentukan kalus pada permukaan luka, baik pada bagian atas maupun bawah eksplan. Persentase eksplan yang membentuk kalus disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3 memperlihatkan, bahwa perlakuan-perlakuan medium MS dan WPM berbeda nyata terhadap perlakuan komposisi media MS $\frac{1}{2}$, B-5, LS dan SH. Sedangkan antara perlakuan MS dan WPM tidak memperlihatkan perbedaan pengaruh yang nyata.

Pembahasan

Eksplan dan kultur dapat mengalami kontaminasi yang disebabkan oleh berbagai mikroorganisma termasuk jamur dan bakteri. Kontaminasi yang disebabkan oleh mikroorganisma ini menjadi masalah terbesar di dalam teknik kultur jaringan. Kontaminasi dapat terjadi di permukaan eksplan, di antara sel-sel ataupun di dalam sel-sel itu sendiri.

Sterilisasi permukaan untuk mengatasi kontaminasi tersebut dapat dilakukan dengan pencucian dan perlakuan berbagai bahan kimia.

Hambatan yang paling pokok di dalam pekerjaan sterilisasi adalah menentukan takaran yang tepat dari bahan kimia yang digunakan untuk menghilangkan mikroorganisma tanpa merusak ataupun mematikan jaringan tanaman. Taji, Dodds dan Williams (1993) menyatakan, bahwa penanganan yang tepat terhadap bahan tanaman sewaktu di lapangan (*in vivo*) dapat mengurangi tingkat kontaminasi awal sehingga mengurangi kekuatan konsentrasi bahan sterilisasi yang digunakan, yang pada akhirnya mengurangi kerusakan pada jaringan tanaman.

Meskipun sejumlah eksplan masih mengalami kontaminasi setelah diperlakukan dengan Ca-ataupun Na-hipo., penggunaan kedua bahan kimia ini tetap merupakan pilihan terbaik dibandingkan dengan HgCl₂. Hal ini dikarenakan perlakuan HgCl₂ yang dicobakan ternyata tidak saja membunuh cendawan dan bakteri, tetapi juga mematikan jaringan tanaman yang dikulturkan. Di samping itu, karena sifatnya yang sangat beracun, maka penggunaan HgCl₂ merupakan alternatif terakhir apabila tidak ada pilihan lain.

Keberhasilan sterilisasi menggunakan Na-hipo. dilaporkan oleh Rama dan Pontikis (1990) pada tanaman zaitun (*Olea europea sativa*). Eksplan nodus tunggal dari tanaman ini direndam selama 10 menit di dalam larutan Na-hipo. 10%+Tween-20 0.01% . Dilaporkan, bahwa 70 hingga 80% eksplan bebas dari kontaminasi mikroorganisma. Vinterhalter dan Neskovic (1992) juga melaporkan keberhasilan penggunaan Na-hipo. sebagai bahan sterilisasi pada eksplan tunas dorman tanaman *Cydonia oblonga* menggunakan klorin aktif 0.4% selama 20 menit. Selanjutnya Arnold, Binns, Barthakur dan Cloutier (1992) juga menggunakan Na-hipo. sebagai bahan sterilisasi eksplan nodus tanaman *Rosa hybrida*. Didapatkan, bahwa perendaman di dalam larutan Na-hipo. 2.5% selama 20 menit cocok untuk sterilisasi permukaan. Kanakis dan Demetriou (1993) juga menggunakan metoda perendaman selama 15 menit di dalam larutan Na-hipo. (klorin tersedia 8%) terhadap eksplan pucuk tanaman *Cyanara scolymus*.

Sementara itu penggunaan Ca-hipoklorit dilaporkan oleh Marks dan Simpson (1993) pada tanaman *Quercus robur*. Potongan pucuk tanaman ini disterilisasi melalui perendaman di dalam HgCl₂ 0.5%+Tween-20 0.05% selama 5 menit. Selanjutnya eskplan tersebut dibilas 3 kali dengan air steril

diikuti dengan perendaman di dalam Ca-hipoklorit 5% (klorin tersedia 1%)+Tween-20 0.05% selama 15 menit. Sebelum dikulturkan eksplan tersebut dibilas sebanyak 3 kali dengan air steril.

Analisis statistik pada Percobaan 2 menunjukkan adanya perbedaan pengaruh yang nyata dari keenam komposisi media yang digunakan terhadap pembentukan kalus. Komposisi media dasar yang memiliki peluang untuk diuji lebih lanjut adalah MS dan WPM. Sementara itu media MS $\frac{1}{2}$, B-5, LS dan SH tidak memperlihatkan pengaruh yang nyata terhadap pembentukan kalus.

Perbedaan respon yang ditunjukkan oleh eksplan yang dikulturkan terhadap sejumlah komposisi media merupakan suatu manifestasi adanya perbedaan kebutuhan nutrisi dari eksplan tersebut. Kebutuhan nutrisi untuk pertumbuhan yang optimum merupakan salah satu faktor penentu keberhasilan teknik kultur jaringan yang pada kenyataannya berbeda antar spesies tanaman. Oleh karenanya tidak ada satupun medium tunggal yang dapat digunakan secara universal untuk semua jenis tanaman. Rahardja (1989) menyatakan, bahwa komposisi medium tertentu biasanya cocok untuk spesies tanaman tertentu, dan belum tentu sesuai untuk spesies lain. Namun demikian medium dasar MS lebih banyak digunakan daripada media lain karena komposisi nutrisinya yang memenuhi kebutuhan sebagian besar spesies tanaman.

Penggunaan medium WPM umumnya terhadap tanaman-tanaman keras, karena memang medium ini pada mulanya diformulasikan oleh Lloyd dan McCown (1980) untuk kultur jaringan tanaman berkayu. Ciri utama dari medium ini adalah rendahnya konsentrasi ion yang terkandung di dalamnya, dan hal ini konsisten dengan media lain yang dikembangkan untuk tanaman-tanaman berkayu. Akan tetapi kandungan sulfat di dalam medium WPM lebih tinggi daripada konsentrasi rata-rata. Menurut George dan Sherrington (1984) medium WPM banyak digunakan pada perbanyakan mikro tanaman perdu dan pohon-pohonan.

Kesimpulan

Dari hasil yang diperoleh pada penelitian ini dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

1. Sterilisasi eksplan nodus tunggal tanaman kayu manis asal lapangan dapat dilakukan dengan menggunakan larutan Ca-hipoklorit konsentrasi 0,1 hingga 0,5% dengan lama perendaman antara 10 hingga 30 menit. Sementara itu apabila menggunakan Na-hipo., maka konsentrasi yang dianjurkan adalah 0,1% dengan lama perendaman 30 menit.
2. Medium dasar yang memiliki peluang untuk digunakan lebih lanjut pada kultur jaringan kayu manis adalah komposisi media MS dan WPM.

Daftar pustaka

- Arnold, N.P., Binns, M.R., Barthakur, N.N. and Cloutire, D.C. 1992. A study of the effect of growth regulators and time of plantlet harvest on the *in vitro* multiplication rate of hardy and hybrid tea roses. *Journal of Horticultural Science*, 6:727-735.
- Bliss, C.I. 1967. *Statistics in biology: statistical methods for research in natural science*. McGraw-Hill Book Company, New York.
- Eck, J.M. van and Kitto, S.L. 1992. Regeneration of peppermint and orange mint from leaf disks. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 1:41-49.
- Gamborg, L.O. and Shyluk, J.P. 1981. Nutrition, media and characteristic of plant cell and tissue culture, pp. 21-44. In: *Plant Tissue Culture: Method and Application in Agriculture*. Thorpe, A.T. (Ed.). Academic Press, Inc., New York.
- Kanakis, A.G. and Demetriou, K. 1993. *In vitro* shoot regeneration of globe artichoke from shoot apices treated with thiadiazuron and from mature zygotic embryos treated with cytokinins. *Journal of Horticultural Science*, 68(3):439-445.
- Linsmaier, E.M. and Skoog, F. 1965. Organic growth factor requirements of tobacco tissue culture. *Physiology Plantarum*, 18:100-127.
- Lloyd, G.B. and McCown, B. 1980. Commercially feasible propagation of mountain laurel (*Kalmia latifolia*) by use of shoot tip culture. *Combined Proceeding of International Plant Propagator Society*, 30:421-427.

- Marks, T.R. and Simpson, S.E. 1993. Changes in the competence of *Quercus robur* 'Fastigiata' to grow *in vitro* as affected by seedling rootstocks and differential pruning. *Journal of Horticultural Science*, 68(5):815-824.
- Mensuali-Sodi, A., Panizza, M., Serra, G. and Tognoni, E. 1993. Involvement of activated charcoal in the modulation of abiotic and biotic ethylene levels in tissue cultures. *Scientia Horticulturae*, 1:47-49.
- Microsoft Corporation. 1992. Microsoft Excel Version 4.0: User Guide 2. Microsoft Corporation, U.S.A.
- Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15, 473-497.
- Ott, L. 1988. An introduction to statistical methods and data analysis. PWS-KENT Publishing Company, Boston.
- Qureshi, J.A. and Saxena, P.K. 1992. Adventitious shoot induction and somatic embryogenesis with intact seedlings of several hybrids seed geranium (*Pelargonium x hortorum* Bailey) varieties. *Plant Cell Report*, 9:443-448.
- Rahardja, P.C. 1989. Kultur jaringan: teknik perbanyak tanaman secara modern. P.T. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Rama, P. and Pontikis, C.A. 1990. *In vitro* propagation of olive (*Olea europea sativa* L.) 'Kalamon'. *Journal of Horticultural Science*, 65, 347-353.
- Rismunandar. 1989. Kayu manis. P.T. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Schenk, R.U. and Hildebrandt, A.C. 1972. Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures. *Canadian Journal of Botany*, 50:199-204.
- Taji, A.M., Dodd, W.A. and Williams, R.R. 1993. Plant tissue culture practice. The University of New England Printery, Armidale.
- Vinterhalter, B. and Neskovic, M. 1992. Factors affecting *in vitro* propagation of quince (*Cydonia*

oblonga Mill.). *Journal of Horticultural Science*, 67, 39-43.

Lampiran

Table 1. Pengaruh konsentrasi Ca-hipoklorit pada beberapa periode perendaman terhadap persentase eksplan sehat.

Takaran Ca-hipo. dan lama perendaman	%-eksplan sehat
0,1% Ca-hipo.+20 menit perendaman	8,14 a
0,1% Ca-hipo.+30 menit perendaman	8,14 a
0,5% Ca-hipo.+30 menit perendaman	8,14 a
0,5% Ca-hipo.+20 menit perendaman	7,20 a
0,1% Ca-hipo.+10 menit perendaman	6,26 a
0,5% Ca-hipo.+10 menit perendaman	6,26 a
1,0% Ca-hipo.+10 menit perendaman	5,32 a
1,0% Ca-hipo.+30 menit perendaman	5,32 a
1,0% Ca-hipo.+20 menit perendaman	4,37 a
5,0% Ca-hipo.+10 menit perendaman	0,61 b
5,0% Ca-hipo.+20 menit perendaman	0,61 b
5,0% Ca-hipo.+30 menit perendaman	0,61 b

Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata pada taraf $\alpha = 0,05$ uji Duncan

Table 2. Pengaruh konsentrasi Na-hipoklorit pada beberapa periode perendaman terhadap persentase eksplan sehat.

Takaran Na-hipo. dan lama perendaman	%-eksplan sehat
0,1% Na-hipo.+30 menit perendaman	8,14 a
0,5% Na-hipo.+20 menit perendaman	5,32 ab
0,5% Na-hipo.+30 menit perendaman	5,32 ab
1,0% Na-hipo.+20 menit perendaman	5,32 ab
0,1% Na-hipo.+20 menit perendaman	5,26 ab
0,1% Na-hipo.+10 menit perendaman	4,38 ab
1,0% Na-hipo.+10 menit perendaman	4,38 ab
0,5% Na-hipo.+10 menit perendaman	3,43 b
5,0% Na-hipo.+10 menit perendaman	2,49 b
1,0% Na-hipo.+30 menit perendaman	0,61 b
5,0% Na-hipo.+20 menit perendaman	0,61 b
5,0% Na-hipo.+30 menit perendaman	0,61 b

Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata pada taraf $\alpha = 0,05$ uji Duncan

Table 3. Pengaruh beberapa komposisi media dasar terhadap proliferasi kalus pada eksplan kayu manis.

Komposisi media	proliferasi kalus (%)
Murashige and Skoog (MS)	8,14 a
Woody Plant Medium (WPM)	6,26 a
Murashige and Skoog-1/2 (MS ^{1/2})	0,61 b
B-5 Medium (B-5)	0,61 b
Linsmaier and Skoog (LS)	0,61 b
Schenk and Hildebrandt (SH)	0,61 b

Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata pada taraf $\alpha = 0,05$ uji Duncan

¹ Berturut-turut adalah staf pengajar pada Program Studi Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Jambi.