

Somatik Embriogenesis Langsung Dan Tidak Langsung Pada Tanaman Porang (*Amarphopallus oncophilus*)**Mohammad Nur Khozin^{1*}, Didik Pudji Restanto², Dwi Erwin Kusbianto³**^{1*} Staff Pengajar PS. Agronomi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember, Jember, Jawa Timur, Indonesia. 68121² Staff Pengajar PS. Agronomi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember, Jember, Jawa Timur, Indonesia. 68121³ Staff Pengajar PS. Ilmu Pertanian (Perkebunan), Fakultas Pertanian, Universitas Jember, Jember, Jawa Timur, Indonesia. 68121*Penulis untuk Korespondensi: nurkhozin@unej.ac.id ; restanto.lemlit@unej.ac.id

Diterima 30 Desember 2021/ Disetujui 30 Agustus 2022

ABSTRACT

Propagation of conract using somatic embryogenesis techniques either directly or indirectly gives hope procuring large quantities of seeds. This study aims to evaluate the method of direct and indirect somatic induction of embryogenesis from conract. In vitro porang leaves were used as explants. The media used is Murashige and Skoog (MS) media with a combination of NAA and BAP. The results showed that in vitro porang leaf explants cultured in media containing BA 2.22 M could induce embryosomatics directly, whereas media containing single 20 M NAA and a combination of NAA 20 M + BA 2.22 M induced direct and or indirect embryosomatics. . The best medium for induction was shown by 20 M NAA media which had 100% SE induction percentage and fast time. relatively.

Keywords: Conract, somatic embryogenesis, hormones, direct, indirect.

ABSTRAK

Perbanyakan tanaman porang menggunakan teknik pembentukan embriogenesis somatik baik langsung maupun tidak langsung memberikan harapan dalam pengadaan bibit dengan jumlah besar. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi metode induksi somatik embriogenesis secara langsung dan tidak langsung dari tanaman porang. Daun in vitro porang dipakai sebagai eksplan. Media yang digunakan adalah media Murashige and Skoog (MS) dengan kombinasi NAA dan BAP. Hasil penelitian menunjukkan bahwa eksplan daun invitro porang yang dikulturkan dalam media yang mengandung BA 2,22 µM dapat menginduksi embriosomatik langsung, sedangkan media yang mengandung NAA 20 µM tunggal dan kombinasi NAA 20 µM + BA 2,22 µM meginduksi embriosomatik langsung dan atau tidak langsung. Media untuk induksi terbaik ditunjukkan oleh media NAA 20 µM yang mempunyai presentase induksi SE 100% dan waktu yang relatif cepat.

Kata Kunci: Porang, somatik embriogenesis, hormon, langsung, tidak langsung .

PENDAHULUAN

Tanaman porang merupakan tanaman yang memiliki nilai ekonomi yang tinggi serta kandungan glukomanan sebagai serat pangan yang larut air dan bersifat hidrokolid kuat serta rendah kalori yang banyak digunakan pada industri pangan baik sebagai pangan fungsional seperti jelly yang rendah kalori, mie basah rendah kalori, beras tiruandan tahu jepang (tofu).

Tanaman porang banyak tumbuh di hutan tropis di Indonesia seperti di desa Klangon, Kecamatan Saradan Kabupaten Madiun yang merupakan lokasi sentral produksi porang yang berkualitas. Perkembangbiakan tanaman porang melalui dua teknik yaitu dengan biji dan katak. Biji dan katak pada tanaman porang dihasilkan setahun sekali dan mempunyai masa dormansi yang lama sekitar 6 bulan (panen biji dan katak bulan Mei dan baru bisaberkecambah di bulan November sehingga mejadi permasalahan dalam budidaya tanaman porang dan porang tidak bisa ditanam setiap saat.

Perbanyakan secara in vitro melalui somatik embriogenesis menjadi alternatif karena selain bebas

dari pengaruh iklim perbanyakan dengan kultur jaringan utamanya melalui somatik embriogenesis berpotensi menghasilkan bibit dalam jumlah banyak, seragam, dan dalam waktu yg relatif singkat. Somatik embriogenesis dapat terjadi secara langsung dan tidak langsung. Embriogenesis somatik langsung terjadi padapotongan eksplan berdiferensiasi dan langsung membentuk embriosomatik fase globular kemudian beregenerasi membentuk akar dan tunas (George dan Sherrington, 1984). Embriogenesis tidak langsung dalam proses perkembangan embrionya masih melalui pembentukan kalus terlebih dahulu utamanya membentuk kalus yang bersifat embriogenik (Chawla, 2000). Menurut Dublin (1981) dan Ramos (1993), Embriogenesis langsung memerlukan waktu lebih singkat untuk menghasilkan plantlet dan kemungkinan terjadinya penyimpangan akibat variasi somaklonal lebih kecil dibandingkan embriogenesis tidak langsung. Berdasarkan masalah ini penelitian ini bertujuan untuk mengkaji dan mengevaluasi proses induksi embriosomatik dari eksplan sehingga terjadi

embriogenesis secara langsung maupun tak langsung.

BAHAN DAN METODOLOGI

Penelitian dilaksanakan selama 5 (lima) bulan bertempat di Laboratorium kultur jaringan tanaman PS. Agronomi Fakultas Pertanian UNEJ.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat peralatan dan bahadalam laboratorium kultur jaringan tanaman. Penelitian ini mengguakan eksplan daun tanaman porang yang didapatkan dari hasil kultur bji secara in vitro sehingga didapatkan eksplan yang tidak perlu dilakukan sterilisasi karna merupakan ekplan yang berasal darikondisi in vitro. Daun dipotong sekitar 1 cm². Media dasar yang digunakan adalah media Murashige and Skoog(MS) dengan tambahan vitamin dan myoinositol dikombinasi dengan hormon NAA dan BAP.Eksplan yang telah ditanam dalam laminarair flow kemudian diletakkan dalam rakinkubasi, subkultur dilakukan sekitar sebulan sekali.

Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode kualitatif bersifat deskriptif analisis dan visual analisis. Pengamatan dilakukan dengan menganalisa mekanisme kemunculan embriosomatik, analisa visual warna dan tekstur kalus, serta analisa secara histologi dengan menggunakan metode (Jensen, 1962).

Analisis Data

Analisis secara deskriptif digunakan untuk menjabarkan data hasil pengamatan tersebut. Selanjutnya, analisis visual digunakan untuk menganalisis perkembangan embriosomatik serta keragaan secara kualitatif. Analisa histologi digunakan untuk menganalisa kenampakan secara anatomi kalus yang terbentuk.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan cara kemunculan embrio somatik terlihat tabel 1, bahwa perlakuan hormon dapat menginduksi embrio somatik melalui dua jalur yaitu secara langsung dan atau tidak langsung, meskipun dengan media dan konsentrasi hormon yang sama.

Tabel 1. Pengaruh konsentrasi hormon NAA dan BAP terhadap persentase eksplan membentuk SE dan cara kemunculan SE.

Hormon	Cara Induksi Embriosomatik	Persentase eksplan membentuk SE
NAA 20 µM	langsung dan atau tidak langsung	100%
BA 2,22 µM	Langsung	33%
NAA 20 µM + BA 2,22 µM	langsung dan atau tidak langsung	100%



Gambar 1. Cara kemunculan embriosomatik

Terlihat dalam gambar 1 menunjukkan cara kemunculan embrio somatik yang beragam.terdapat eksplan yang menginduksi SE secara tidak langsung dengan membentuk kalus (1a), secara langsung membentuk globular embrio (1b), dan satu eksplan dapat menginduksi SE secara langsung pada bagian bawah eksplan terjadi pembentukankalus serta pada bagian atas membentuk embrio globular (1c). Hal ini diduga kemampuan dari eksplan setiap jaringan eksplan berbeda-beda untuk mengalami embriogenesis (Utami, et al. 2007b).

Somatik Embriogenesis Tidak Langsung (Indirect SE)

Teknik pembentukan SE secara tidak langsung membutuhkan waktu inisiasi dan induksi kalus yang embriogenik dengan kisaran waktu lebih lama dibandingkan dengan pembentukan SE secara langsung. Kendala lain yang dihadapi untuk pembentukan SE secara tidak langsung adalah tidak semua kalus yang terbentuk bersifat embriogenik sehingga tidak bisa berdiferensiasi ke tahapan selanjutnya yaitu membentuk embriosomatik. Pembentukan SE secara tidak langsung dapat menghasilkan berbagai macam tipe kalus selama proses induks. Setiap kalus memiliki potensi yang berbeda dalam membentuk embriosomatik. Eksplan yang membentuk kalus yang berpotensi membentuk embriosomatik adalah kalus yang bersifat embriogenik. Yaitu kalus yang mempunyai bertekstur friable/remah serta mudah dipisahkan menjadi fragmen-fragmen yang kecil. Sedangkan kalus yang tidak potensial mempunyai kecenderungan yang kompak/keras. Berbentuk granul serta sulit dipisahkan. Kalus dengan potensi embriogenik biasanya melalui fase pendewasaan yang singkat kemudian fase embriogenik sedangkan kalus yang kompaknya mengalami pembesaran tetapi tidak membentuk embriosomatik.



Gambar 2 Kalus Friable pada induksi indirect SE



Gambar 3. Kalus kompak pada induksi *indirect* SE

Kendala pada induksi SE secara tidak langsung banyak dijumpai diantaranya adalah membutuhkan waktu yang cukup panjang, tidak semua kalus bersifat friable. Dalam induksi SE secara tidak langsung, kecepatan dalam induksi kalus dan embriosomatik merupakan salah satu hal penting yang perlu diperhatikan karena selain memerlukan waktu lebih lama dibandingkan dengan SE secara langsung.

Tabel 2. Pengaruh konsentrasi hormon NAA dan BAP terhadap kediniannya munculnya kalus dan kediniannya kemunculan SE

Hormon	Kediniannya Induksi Kalus (Hari)	Kediniannya Induksi SE (Hari)
NAA 20 μ M	27	36
BA 2,22 μ M	-	34
NAA 20 μ M + BA 2,22 μ M	21	38

Kecepatan induksi kalus (Tabel 2) menunjukkan bahwa terdapat 2 perlakuan yang menginduksi embriosomatik dengan melalui pembentukan kalus terlebih dahulu. Kedua perlakuan yang menginduksi SE secara tidak langsung membutuhkan waktu untuk menginduksi kalus mulai dari 21 hari sampai 27 hari.

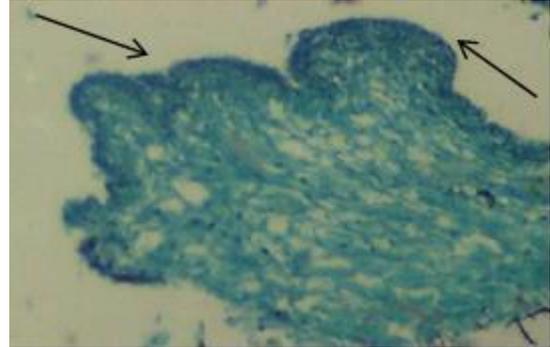
Proses induksi embriogenesis secara tidak langsung dengan melalui tahapan kalus terdapat pada perlakuan yang dikombinasikan dengan ZPT NAA. dan perlakuan lainnya juga dapat menginduksi SE secara langsung. Hal ini sesuai dengan yang diharapkan, hampir seluruh perlakuan dapat menginduksi embrio somatik secara langsung. Embriogenesis langsung memerlukan waktu lebih singkat untuk menghasilkan plantlet dan kemungkinan terjadinya penyimpangan akibat variasi somaklonal lebih kecil dibandingkan embriogenesis tidak langsung.

Somatik Embriogenesis Secara Langsung (Direct SE)

Pembentukan Direct SE menghasilkan embrio yang lebih awal dibandingkan teknik indirect SE karena eksplan langsung membentuk embriosomatik fase globular tanpa melalui fase pengkalusan akan tetapi jumlah embrio yang dihasilkan terbatas sehingga tidak mencukupi materi untuk proses multiplikasi seperti halnya multiplikasi yang terjadi pada Indirect SE beberapa kendala yang sering terjadi pada direct SE adalah karena tidak terbentuk kalus pada fase awal sehingga tidak terjadi multiplikasi dan jumlah embrio yang terbentuk terbatas.

Respon munculnya SE secara langsung terjadi meskipun penambahan hormon yang diberikan adalah jenis hormon auksin dengan NAA adanya induksi SE pada eksplan dikarenakan Sitokinin endogen yang ada dalam eksplan. Hormon endogen merupakan kandungan hormon yang ada di dalam eksplan. Setiap sel tanaman memiliki kandungan hormon endogen seperti auksin dan sitokinin yang konsentrasinya sulit ditentukan. Sitokinin dalam tanaman biasanya dibutuhkan pada

kisaran 0-10ppm sedangkan Hormon auksin dibutuhkan antara 0-5 ppm (Earle & Demarly, 1982). Jika konsentrasi auksin lebih tinggi maka akan memacu perakaran sedangkan bila konsentrasi sitokinin yang lebih tinggi akan memacu tumbuhnya tunas sedangkan apabila berimbang akan menghasilkan kalus dan atau embriosomatik.

Gambar 4. Embriosomatik pada *Direct* SE

Gambar 5. Induksi SE secara Histologis

Gambar 5. Menunjukkan induksi Kalus Embriogenik (kiri) dan kalus embriogenik yang memasuki tahapan embriosomatik fase globular (Kanan). Terlihat dari eksplan yang terbentuk pembelahan sel secara terus menerus dan melimpah di area tepi dan tidak beraturan atau amorphus pada kalus dan menjadi kumpulan sel yang mempunyai bentuk yang lebih teratur pada fase embriosomatik globular.

Utami et al. (2007b) menjelaskan bahwa kebutuhan hormon yang harus ditambahkan terhadap media untuk induksi kalus embriogenik bervariasi untuk setiap jenis eksplan karena setiap jenis eksplan mempunyai sifat genetik yang berbeda serta setiap eksplan mempunyai kandungan hormon endogen yang sulit ditentukan sehingga respon yang dihasilkan pun juga berbeda. Pada semua media mampu membentuk embrio somatik fase globular. Menurut Visser et al. (1992), pemberian Hormon NAA dan BAP pada media dapat menginduksi SE lebih baik serta dapat menggantikan peran hormon auksin dan sitokinin sekaligus dalam menginduksi SE.

KESIMPULAN

dikulturkan dalam media yang mengandung BA 2,22 μ M dapat menginduksi embriosomatik langsung, sedangkan media yang mengandung NAA 20 μ M tunggal dan kombinasi NAA 20 μ M + BA 2,22 μ M

meginduksi embriosomatik langsung dan atau tidak langsung. Media untuk induksi terbaik ditunjukkan oleh media NAA 20 μ M yang mempunyai presentase induksi SE 100% dan waktuyang relatif cepat.

embryogenic ability and regeneration from floral axis of *Amorphophallus konjac* (Araceae). *Open Life Science*. 12: 34–41

SARAN

1. Uji lanjut dengan menumbuhkan kalus maupun embriosomatik sampai fase regenerasi membentuk planlet
2. Melakukan analisa secara molekuler dalam upaya mengetahui penciri bahwa kalus yang terinduksi embriogenik dan embrio yang terinduksi adalah embriosomatik

DAFTAR PUSTAKA

- Chawla, H. S. 2000. Introduction to Plant Biotechnology. Science Publishers Inc. USA. Dublin, P. 1981.
- Embryogenesis Somatique Directe Sur Fragments de Feuilles de Cofeier Arabusta. *Cafe Cacao The Journal*. 25(4) : 237-242.
- Gaspers, K. W. 1994. Metode Perancangan Percobaan. Penerbit CV Armico. Bandung George dan Sherrington, 1984 Plant Propagation by Tissue Culture. England: Exegetics Ltd.
- Eversley Basingstoke, Hants Purnamaningsih, R. 2002. Regenerasi Tanaman Melalui Embriogenesis Somatik dan Beberapa Gen yang Mengendalikannya. *Buletin AgroBio*. 5 (2) : 51-58.
- S.Kamala and Makesh Kumar. 2014. Optimisation of in vitro regeneration and microcorm induction in elephant foot yam *Amorphophallus F.* *Academic Journal*. 13(49):1-7
- Sari, R., Suhartati. 2015. tumbuhan porang: Prospek Budidaya Sebagai Salah Satu Sistem Agroforestry. *Info Teknis EBONI*. 12(2): 97-110
- Swati T. Gurme, Pooja P. Jadhav, Kiran D. Pawar, Vishwas A. Bapat & Jyoti P. Jadhav. 2018. Somatic embryogenesis and evaluation of genetic fidelity in *Amorphophallus paeoniifolius* (Dennst.) Nicolson. *Journal of Crop Improvement*. 25(3):1-12
- Utami, E. S. W., Issirep, S., Taryono, dan Endang, S. 2007b. Pengaruh α - Naphtaleneacetic Acid (NAA) Terhadap Embriogenesis Somatik Anggrek Bulan *Phalaenopsis Amabilis* (L.) Bl. *Biodiversitas*, 8(4): 295-299
- Zhong, lin., Liu, Erxi., Yang, Jin, Diao, Hu. 2017. High