Imran M. Nana, Putra (Eds)
Prosiding Seminar dan Rapat Tahunan BKS-PTN Wilayah Barat Ke-21
10-11 Mei 2010
ISBN.

28.

STRUKTUR ANATOMI DAUN KLON ANDALAS (*Morus macroura* Miq. *var. macroura*) HASIL SELEKSI CEKAMAN KEKERINGAN SECARA IN VITRO MENGGUNAKAN POLIETILENA GLIKOL

M. Idris[1]* dan Mansyurdin[2]

[1]Laboratorium Fisiologi Tumbuhan Jurusan Biologi
[2]Laboratorium Struktur dan Perkembangan Tumbuhan Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas, Padang

*email korespondensi : uwakidris@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian tentang struktur anatomi daun klon Andalas hasil seleksi cekaman kekeringan menggunakan polietilena glikol (PEG) telah dilakukan dengan metode eksperimen memanfaatkan teknik in vitro melalui pengamatan secara deskriptif. Penelitian terdiri atas dua tahapan seleksi yaitu tahap awal menggunakan PEG pada rentang konsentrasi 1,25% maksimal 5% yang kemudian diperbanyak dengan dan tanpa penambahan PEG maksimal dimana eksplan bertahan hidup. Tahap lanjutan menggunakan PEG pada konsentrasi kelipatan 0,25% diatas konsentrasi maksimal yang mampu ditolerir pada tahap sebelumnya yang dilanjutkan dengan perbanyakan dan induksi perakaran tunas pada medium dengan dan tanpa PEG. Pengamatan anatomi dilakukan pada akhir perlakuan terhadap stomata, epidermis dan parenkim daun. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian PEG 4% merupakan batas konsentrasi maksimum yang mampu ditolerir eksplan Andalas. Eksplan hasil seleksi yang diakarkan pada medium PEG memiliki jumlah stomata 275/mm^2, ketebalan daun 139,99-159,98µm, ketebalan epidermis atas dan bawah 19,99-26,66µm dan 19,99-23,33µm, ketebalan palisade dan spons 36,66-43,33µm dan 56,66-66,66µm. Eksplan hasil seleksi yang diakarkan pada medium tanpa PEG memiliki jumlah stomata 425/mm^2 , ketebalan daun 73,33-83,33µm, ketebalan epidermis atas dan bawah 13,33-19,99µm dan 9,99-13,33µm, ketebalan palisade dan spons 23,33-26,66µm dan 26,66-33,33µm. Eksplan kontrol tanpa perlakuan PEG memiliki jumlah stomata 800/mm^2, ketebalan daun 76,66-99,99µm, ketebalan epidermis atas dan bawah 16,67-19,99µm dan 13,33-16,67µm, ketebalan palisade dan spons 19,99-26,66µm dan 23,33-33,33µm. Hasil penelitian memberikan gambaran bahwa cekaman kekeringan yang dialami eksplan klon Andalas pada konsentrasi PEG 4% menyebabkan pengurangan jumlah stomata namun sebaliknya terjadi peningkatan ketebalan daun, lapisan epidermis dan mesofil.

Kata Kunci : Andalas, daun, epidermis, *in vitro*, mesofil, PEG, stomata.

Imran M, Nana, Putra (Eds)
Prosiding Seminar dan Rapat Tahunan BKS-PTN Wilayah Barat Ke-21
10-11 Mei 2010
ISBN.

1. PENDAHULUAN

Tumbuhan Andalas (*Morus macroura* Miq. *var. macroura*) merupakan salah satu tumbuhan asli Sumatera Barat. Tumbuhan ini tergolong kedalam salah satu tumbuhan langka endemik Indonesia terutama Sumatera. Tumbuhan Andalas memiliki kualitas kayu yang sangat baik untuk bahan perabotan (Dahlan, 1994). Tumbuhan ini mengandung senyawa kimia berpotensi sebagai obat leukemia, anti tumor dan anti bakteri (Achmad *et al*, 2001 dan Soekamto *et al*, 2003).

Berdasarkan kualitas kayunya yang tergolong sangat baik, Andalas sangat potensial dikembangkan untuk tanaman hutan industri. Namun, hal ini terkendala akibat habitatnya yang terbatas di daerah dengan kelembaban yang relatif tinggi. Padahal, areal-areal yang tersedia umumnya adalah lahan terbuka atau bekas tebangan yang sering sudah kering, tandus dan kritis. Oleh karena itu perlu upaya mendapatkan klon-klon baru tumbuhan Andalas yang toleran kekeringan.

Salah satu alternatif untuk penyediaan klon yang toleran terhadap kekeringan adalah melalui seleksi somaklonal Andalas dengan menggunakan polietilena glikol (PEG) secara *in vitro*. Metode ini telah dilakukan pada kopi (Tirtoboma, 1997), dan jenis tumbuhan berkayu yaitu *Eucalyptus grandis*, *Picea mariana*, *Pinus banksiana* (Fan dan Blake, 1997), Mulbery-*Morus* sp. (Tewary et al. 2000) pada kisaran 2-10% PEG. Cekaman kekeringan yang diberikan secara *in vitro* akan menyebabkan perubahan pada struktur anatomi terutama pada daun. Biasanya cekaman kekeringan yang diberikan secara *in vitro* menyebabkan semakin lamanya pembentukan akar. Pengaruh yang diberikan pada daun adalah terjadinya perubahan pada ketebalan lapisan epidermis dan parenkim serta pengurangan jumlah stomata (Sobrado, 2007).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui batas konsentrasi PEG maksimal yang mampu ditolerir oleh tumbuhan Andalas. Penelitian ini juga untuk mengetahui perubahan struktur anatomi daun akibat cekaman kekeringan yang dialami oleh Andalas menggunakan PEG terhadap ketebalan daun, stomata, epidermis dan parenkim daun yang diperkirakan mengalami perubahan akibat cekaman kekeringan yang dialami.

2. METODE DAN BAHAN

2.1. Bahan klon tumbuhan Andalas sebagai sumber eksplan

Bahan klon tumbuhan Andalas yang dimanfaat sebagai eksplan berupa pucuk yang berasal dari perbanyakan *in vitro* tumbuhan Andalas dengan sumber eksplan berasal dari Nagari Andaleh Kab. Tanah Datar, Sumatera Barat pada medium MS dengan penambahan 3 mg/l BA dan 10 mg/l biotin.

2.2. Media Kultur

Medium dasar Murashige-Skoog (MS) komposisi penuh digunakan sebagai media dasar dengan penambahan 3 mg/l BA, 10 mg/l biotin, 0,7% agar, 3% sukrosa untuk medium multiplikasi pucuk (SM) dan MS setengah komposisi dengan penambahan 10 mg/l biotin, 0,7% agar, 3% sukrosa untuk medium induksi perakaran (RI) (Suwirmen, 2007). Pada masing-masing medium ditambahkan PEG sebagai pengatur cekaman kekeringan sesuai dengan perlakuan pada setiap tahap penelitian. Keasaman media kultur diatur hingga mencapai pH 5.5 ± 0,5. Media kultur dimasak sampai mendidih dan kemudian dituang kedalam botol-botol kultur steril dan disterilisasi menggunakan autoclave selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 15 lbs.

2.3. Tahapan penelitian

2.3.1. Cekaman kekeringan *in vitro* tahap I (awal)

Pada tahap ini, eksplan berupa pucuk diperlakukan dalam media inisiasi pucuk-SI (MS komposisi penuh + 10 mg/l biotin) (Suwirmen, 2007) dengan penambahan PEG sebagai faktor pengatur cekaman kekeringan dalam 5 taraf konsentrasi yaitu PEG 0 ; 1.25; 2.50; 3.75; dan 5.00%. Eksplan hasil tahap inisiasi disubkultur pada medium multiplikasi pucuk yang terdiri dari medium tanpa penambahan PEG dan medium dengan penambahan konsentrasi PEG maksimal dimana eksplan masih mampu bertahan hidup.

2.3.2. Cekaman kekeringan *in vitro* tahap II (lanjutan)

Pada tahap ini, pucuk yang diperoleh dari perlakuan konsentrasi PEG maksimal yang bertahan hidup disubkultur pada medium yang ditingkatkan konsentrasi PEG

nya dengan kelipatan 0.25% sampai dibawah batas eksplan mengalami kematian dengan perlakuan PEG. Kemudian dilakukan perbanyakan tunas pada medium dengan dan tanpa PEG sesuai dengan perlakuan sebelumnya serta penginduksian perakaran pada medium RI dengan dan tanpa PEG sesuai dengan hasil seleksi.

Pada setiap tahapan penelitian, eksplan diperlakukan dalam medium perlakuan masing-masing selama 30 hari. Eksplan dipelihara pada ruang inkubasi untuk pertumbuhan eksplan. Ruang inkubasi diatur suhunya pada kisaran 24°C ± 2°C dengan fotoperiodisme 12L / 12D dan intensitas cahaya 500-1500 Lux untuk multiplikasi tunas dan 1500-3000 Lux untuk induksi perakaran.

2.4. Parameter Pengamatan

Pengamatan dilakukan pada akhir penelitian pada tahap induksi perakaran. Pengamatan terhadap anatomi daun dilakukan dengan pembuatan preparat semi permanen yang diamati menggunakan mikroskop serta data ditampilkan dalam bentuk gambar dan hasil pengukuran serta perhitungan. Semua data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif.

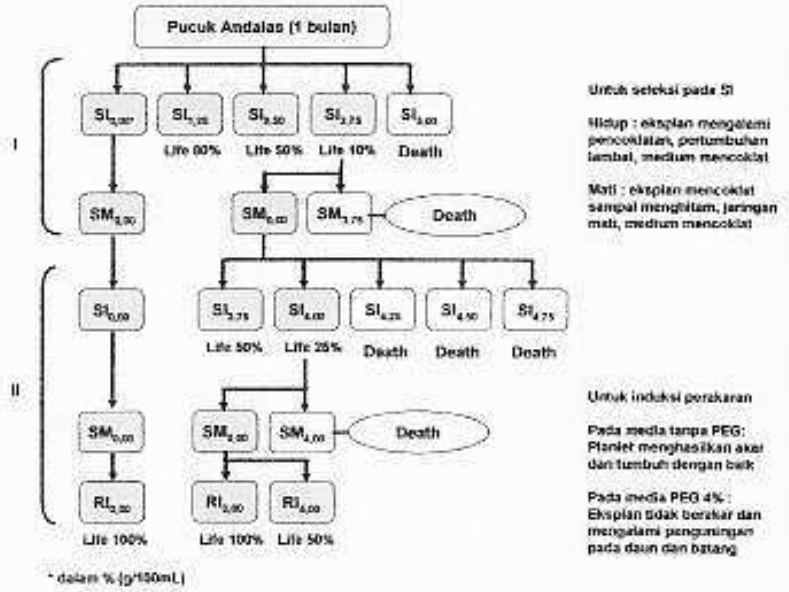
3. HASIL DAN DISKUSI

3.1. Hasil Seleksi Eksplan pada Cekaman Menggunakan PEG secara *In Vitro*

Berdasarkan pengujian yang telah dilakukan didapatkan bahwa pada tahap awal hanya 10% dari total eksplan Andalas yang mampu bertahan hidup pada konsentrasi PEG 3,75%. Pada tahap seleksi lanjutan, eksplan Andalas mampu mentolerir peningkatan konsentrasi PEG maksimal pada taraf 4% dimana hanya 25% dari total eksplan yang diperlakukan mampu bertahan hidup. Pada media perakaran, eksplan hasil seleksi yang ditanam pada media dengan penambahan PEG tidak memperlihatkan adanya pembentukan akar (Gambar 1).

Tewary *et al.*, (2000) mendapatkan ketahanan tanaman mulberry terhadap cekaman kekeringan maksimal pada konsentrasi PEG 4%. Tunas yang dihasilkan mengalami pertumbuhan yang lebih lambat dengan semakin meningkatnya kandungan PEG pada medium. Konsentrasi PEG diatas 4% memperlihatkan

kematian pada eksplan yang diperlakukan sampai konsentrasi PEG 10%. Ahmad *et al.*, (2007) mendapatkan pembentukan dan pertumbuhan akar semakin menurun akibat semakin tingginya cekaman garam yang diperoleh sebelumnya oleh eksplan sewaktu diinisiasi dengan kondisi cekaman garam di tahap sebelumnya.



Gambar 1. Tahapan seleksi somaklonal Andalas yang memperlihatkan persentase eksplan yang mampu bertahan hidup serta respon yang diberikan oleh eksplan akibat cekaman kekeringan PEG yang dialami.

3.2. Karakter anatomi planlet klon Andalas hasil seleksi kekeringan PEG

3.2.1. Stomata

Rata-rata jumlah stomata semakin menurun dengan semakin tingginya cekaman kekeringan yang dialami oleh planlet klon Andalas. Berdasarkan data terlihat bahwa terjadi penurunan jumlah stomata yang signifikan dari kondisi tanpa pemberian PEG dengan pemberian PEG 4%. Stomata pada eksplan yang ditumbuhkan dalam medium tanpa penambahan PEG memperlihatkan ukuran yang relatif sama bila dibandingkan dengan eksplan yang ditumbuhkan pada medium dengan PEG 4% (Tabel 1). Bentuk stomata dapat dilihat pada Gambar 2.

Tabel 1. Karakter stomata planlet klon Andalas pada medium perakaran dengan dan tanpa pemakaian PEG 4% sebagai pengatur cekaman kekeringan setelah 30 hari pada media perlakuan (p = panjang stomata dan l = lebar stomata)

No	Perlakuan Induksi Perakaran	Kisaran ukuran stomata (rata-rata) (µm)	Rata-rata jumlah stomata (/mm^2)
1	PEG 0% disubkultur pada PEG 0%	p : 23,33-36,66 (27,99) l : 19,99-26,66 (21,99)	800
2	PEG 4% disubkultur pada PEG 0%	p : 23,33-26,66 (25,99) l : 19,99-23,33 (21,33)	425
3	PEG 4% disubkultur pada PEG 4%	p : 19,99-39,99 (34,66) l : 19,99-29,99 (23,33)	275

Santamaria *et al.* (1993) dan Namli dan Ayaz (2007), menyatakan bahwa stomata eksplan yang dihasilkan secara *in vitro* memiliki panjang dan lebar yang relatif sama karena aktivitas respirasi yang tinggi. Inamullah dan Isoda (2005) menambahkan bahwa tumbuhan yang diperlakukan dengan kondisi cekamaan lingkungan yang lebih tinggi akan mengakibatkan berkurangnya area stomata, kerusakan dan kematian pada sel-sel penyusun stomata.

3.4.2. Jaringan epidermis dan parenkim daun

Ketebalan daun planlet klon Andalas bertambah dengan cekaman kekeringan yang dialami oleh eksplan. Hal ini diduga karena sedikitnya air yang bisa diserap oleh tumbuhan sehingga jaringan tumbuhan melakukan penghematan air dengan menambah ketebalan daun dan mengurangi jumlah stomata pada permukaan daun.

Lapisan epidermis atas pada perlakuan pemberian PEG memiliki ketebalan yang lebih tebal dibandingkan perlakuan lainnya. Namun, lapisan epidermis bawah memperlihatkan tingkat ketebalan yang lebih rendah dibandingkan epidermis atas. Lapisan parenkim palisade dan parenkim spons memiliki ketebalan yang relatif sama pada eksplan yang disubkultur pada medium tanpa PEG 4%. Pada eksplan yang disubkultur pada medium perakaran dengan penambahan PEG 4% terjadi perbedaan yang cukup jauh antara parenkim palisade dan parenkim spons (Tabel 2 dan Gambar 3).

Tabel 2. Ketebalan jaringan epidermis dan parenkim planlet klon Andalas pada medium perakaran dengan dan tanpa pemakaian PEG 4% sebagai pengatur cekaman kekeringan setelah 30 hari pada media perlakuan

No	Rata-rata ketebalan (µm)	PEG 0% disubkultur pada PEG 0%	PEG 4% disubkultur pada PEG 0%	PEG 4% disubkultur pada PEG 4%
1	Daun	76,66 – 99,99	73,33 – 83,33	139,99 – 159,98
2	Epidermis atas	16,67 – 19,99	13,33 – 19,99	19,99 – 26,66
3	Epidermis bawah	13,33 – 16,67	9,99 – 13,33	19,99 – 23,33
4	Parenkim palisade	19,99 – 26,66	23,33 – 26,66	36,66 – 43,33
5	Parenkim spons	23,33 – 33,33	26,66 – 33,33	56,66 – 66,66

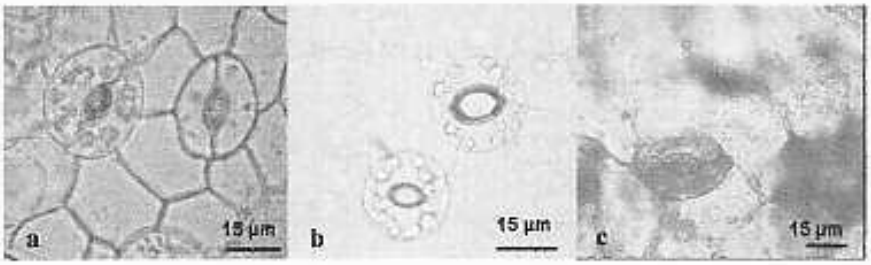
Sobrado (2007) menambahkan bahwa pada tumbuhan Laguncularia racemosa yang mengalami cekaman garam terjadi peningkatan ketebalan daun dan ketebalan parenkim palisade dengan meingkatnya cekaman yang dialami. Ukuran sel parenkim bertambah besar dan susunannya lebih renggang bila *dibandingkan dengan kontrol.*

4. KESIMPULAN

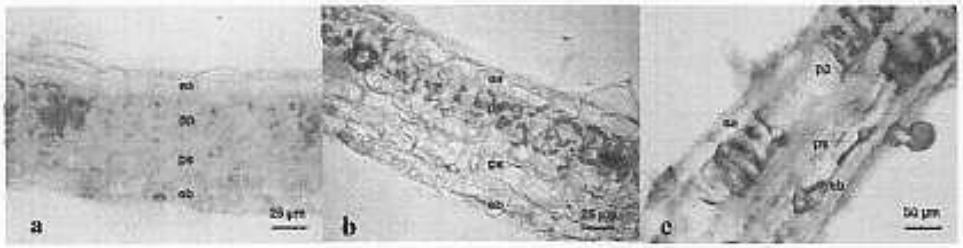
Hasil penelitian memberikan gambaran bahwa eksplan klon Andalas mampu bertahan hidup pada tingkat cekaman kekeringan menggunakan PEG pada konsentrasi maksimal 4%. Cekaman kekeringan yang dialami eksplan klon Andalas menyebabkan pengurangan jumlah stomata namun sebaliknya terjadi peningkatan ketebalan daun, ketebalan lapisan epidermis dan mesofil baik parenkim palisade maupun parenkim spons.

5. UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Prof. Dra. Sjahrial Dahlan, MS. yang telah memberikan sumbangan pemikiran dan masukan dalam penelitian. ini serta atas izin yang diberikan dalam memakai fasilitas yang tersedia pada Laboratorium Struktur dan Perkembangan Tumbuhan Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas. Penulis juga mengucapkan terimakasih pada Tim *Morus macroura* (Andalas) Laboratorium Fisiologi Tumbuhan atas kerjasamanya.



Gambar 2. Struktur anatomi stomata pada media induksi akar; a). Kontrol, b). Eskplan hasil seleksi pada media tanpa PEG dan c). Eksplan hasil seleksi pada media PEG 4%.



Gambar 3. Struktur anatomi daun pada media induksi akar; a). Kontrol, b). Eskplan hasil seleksi pada media tanpa PEG dan c). Eksplan hasil seleksi pada media PEG 4%. (ea = epidermis atas, pp = parenkim palisade, ps = parenkim spons dan eb = epidermis bawah)

DAFTAR PUSTAKA

Achmad, S. A., N. Aimi, E. L. Ghisalberty, E. H. Hakim, Jasmansyah, L. D. Juliawaty, L. Makmur, Y. Manjang, U. Supratman, Suyanto, R. Tamin, dan A. Yelminda. 2001. Some New Compunds from Indonesian Moraceae. *Proceedings, International Seminar on Tropical Rainforest Plants*. Padang. 25 hal.

Ahmad, P., S. Sharma, and P. S. Srivastava. 2007. *In Vitro* Selection of $NaHCO_3$ Tolerant Cultivars of *Morus alba* (Local and Sujanpuri) in Response to Morphological and Biochemical Parameters. *Hort. Sci. (Prague)* 34 (3) : 114-122.

Dahlan, S. 1994. Mengenal *Morus macroura* Miq. Maskot Flora Sumatera Barat. *Jurnal Penelitian Andalas* 15 : 17-20.

Fan, S., and T. J. Blake. 1997. Comparison of Polyethylene Glycol 3350 Induced Osmotic Stress and Soil Drying for Drought Simulation in Three Woody Species. *Tree-Structure and Function* 11 (6) : 342-348.

Inamullah, and A. Isoda. 2005. Adaptive Responses of Soybeans and Cotton to Water Stress I. Transpiration Changes in Relation to Stomata Area and Stomata Conductance. *Plant Prod. Sci.* 8 (1) : 16-26.

Namli, S., and E. Ayaz. 2007. Influence of Different Cytokinins Used in *In Vitro* Culture on The Stomata Morphology of Pistachio (*Pistacia vera* L. Cv. Sirrt). *African Journal of Biotechnology* 6 (5) : 561-563.

Santamaria, J. M., W. J. Davies, and C. J. Atkinson. 1993. Stomata of Micropropagated Delphium Plants to ABA, CO_2, Light and Water Potential but Fail to Close Fully. *Journal of Experimental Botani* 44 (1) : 99-107.

Sobrado, M. A. 2007. Relationship of Water Transport to Anatomical Features in The Mangrove *Laguncularia racemosa* Grown Under Contrasting Salinities. *New Phytologist* 173 : 584-591.

Soekamto, N. H., S. A. Achmad, E. L. Ghisalberti, N. Aimi, E. H. Hakim dan Y. M. Syah. 2003. Beberapa Senyawa Fenol dari Tumbuhan *Morus macroura* Miq. *Jurnal Matematika dan Sains* 8 (1) : 35-40.

Suwirmen. 2007. Produksi Bibit Pohon Andalas (*Morus macroura* Miq.) secara *In Vitro* dalam Upaya Pelestarian Maskot Flora Sumatera Barat. Laporan Research Grand Technological and Profesional Skill Development Sector Project (TPSDP) Batch III/2006 Universitas Andalas. Padang.

Tewary, P. K., A. Sharma, M. K. Raghunath and A. Sarkar. 2000. *In Vitro* Response of Promosing Mulberry (*Morus* sp.) Genotypes for Tolerance to Salt and Osmotic Stresses. *Plant Growth Regulation* 30 (1) : 17-21.

Tirtoboma. 1997. In vitro Selection and Acclimatization of Robusta Coffee Tolerant to Water Stress. *Menara Perkebunan (Indonesian Journal of Biotechnology Research on Estate Crops)* 65 (1) : 9-16.