

## SELEKSI *IN VITRO* TUMBUHAN ANDALAS (*Morus macroura* Miq.) TOLERAN CEKAMAN KEKERINGAN MENGGUNAKAN POLIETILENA GLIKOL (PEG)

Suwirnen

Laboratorium Fisiologi Tumbuhan Jurusan Biologi  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas, Padang

Email korespondensi : [omwirnei@yahoo.com](mailto:omwirnei@yahoo.com)

### ABSTRAK

Untuk mendapatkan bibit Andalus (*Morus macroura* Miq.) yang toleran terhadap cekaman kekeringan, dilakukan secara *in vitro* dengan pemberian Polietilena Glikol (PEG). Penelitian dilakukan secara metode eksperimen, dengan perlakuan penambahan hormon tumbuh BAP dan NAA. Kemampuan eksplan tunas membentuk tunas aksilar akibat cekaman kekeringan 1-3 % PEG diuji pada media MS + 1 - 3 mg/L BAP. Induksi perakaran tunas toleran cekaman kekeringan dilakukan pada media MS setengah komposisi + 2 g/L arang aktif yang mengandung 0 - 4 % PEG. Hasil penelitian memberikan gambaran bahwa multiplikasi tunas aksilar pada sampel tunas tidak dapat berlangsung dengan baik akibat adanya 1 - 3 % PEG pada media yang menghalangi penyerapan BAP. Induksi pembentukan dan pertumbuhan akar terhambat akibat adanya 1 - 4% PEG pada media, dimana semakin tinggi konsentrasi PEG semakin sedikit akar yang dihasilkan dan tunas mengalami kekerdilan.

Kata Kunci: *Morus macroura*, cekaman kekeringan, Polietilena Glikol (PEG), *In Vitro*

### 1. PENDAHULUAN

Tumbuhan Andalus (*Morus macroura* Miq.) merupakan tumbuhan identitas (maskot flora) daerah Sumatera Barat. Pemilihan jenis ini sebagai maskot flora erat kaitannya dengan peranannya dalam kehidupan dan budaya masyarakat Minang. Dahulunya tiang rumah gadang (rumah adat) dibuat dari bahan kayu Andalus, karena kayu ini dikenal berkualitas baik, kuat dan tahan terhadap rayap dan tingginya dapat mencapai 30 meter lebih. Tumbuhan Andalus juga merupakan tumbuhan langka Indonesia yang hanya tersebar di wilayah Sumatera Barat

(Dahlan, 1994). Selain itu, tumbuhan ini juga memiliki kandungan metabolit yang berguna sebagai senyawa anti mikroba dan anti tumor serta potensinya sebagai anti leukemia (Achmad *et al.*, 2001).

Mengingat pohon Andalas yang hampir punah, sedangkan pohon ini mempunyai potensi yang besar karena kualitas kayunya yang baik dan kandungan kimianya sebagai bahan obat-obatan, maka perlu dilakukan suatu usaha untuk pelestariannya. Upaya perbanyak dengan teknik kultur jaringan telah dapat dilakukan (Suwirnen 2007), namun harus ditindak lanjuti untuk mendapatkan klon baru yang tahan kekeringan karena Andalas biasanya hidup pada lingkungan yang lembab, sedangkan lahan tersedia luas adalah lahan yang relatif kering.

Teknik seleksi cekaman kekeringan secara *in vitro* merupakan alternatif peningkatan mutu planlet Andalas seperti yang telah dilakukan terhadap jenis *Morus alba*. Secara *in vitro*, polietilena glikol (PEG) merupakan senyawa yang banyak dimanfaatkan dalam uji peningkatan toleransi tumbuhan terhadap cekaman kekeringan. PEG merupakan polimer netral yang mudah larut dalam air dengan tingkat toksisitas yang sangat rendah atau tidak ada sama sekali bagi tumbuhan karena tidak diserap oleh akar. PEG memberikan efek menurunkan potensial air media tumbuh dan juga potensial air jaringan tumbuhan (Lawlor, 1970).

Dragiiska, Djilianov, Denchev dan Atanasov (1996) menggunakan PEG pada taraf 5-10% untuk seleksi *in vitro* cekaman kekeringan pada Alfalfa (*Medicago sativa*). Tirtoboma (1997) melakukan seleksi *in vitro* terhadap kalus kopi robusta yang toleran terhadap cekaman air pada konsentrasi PEG 0-10%. Tewary, Sharma, Raghunath dan Sarkar (2000) menggunakan PEG pada konsentrasi 5-10% dalam seleksi cekaman kekeringan varietas *Morus alba*.

Berdasarkan hal diatas dapat dilihat bahwa tumbuhan Andalas memiliki potensi yang sangat besar untuk dikembangkan menjadi tanaman industri melalui peningkatan toleransinya terhadap kondisi ekstrim dilapangan (tandus). Melalui penelitian ini diharapkan dapat diperoleh klon-klon tumbuhan Andalas yang toleran terhadap cekaman kekeringan dengan menggunakan senyawa PEG sebagai agen pengatur cekaman kekeringan secara *in vitro*.

## **2. METODE DAN BAHAN**

Penelitian dilakukan secara eksperimen dan analisis data dilakukan secara deskriptif karena kemungkinan adanya sampel perlakuan yang mengalami kematian/tidak tumbuh yang menyebabkan data tidak bisa dianalisa secara statistik.

### ***2.1. Persiapan Eksplan Jaringan Tumbuhan Andalas Secara In Vitro***

Eksplan yang digunakan berasal dari pucuk tumbuhan Andalas yang telah diperbanyak secara *in vitro* pada medium MS dengan penambahan 3 mg/L BA dan 10 mg/L Biotin selama satu bulan. Bagian eksplan yang dimanfaatkan pada penelitian ini adalah daun, nodus dan tunas dengan ukuran proporsional.

### ***2.2. Penanaman eksplan pada setiap tahap penelitian***

Eksplan ditanam pada media tanam sesuai dengan perlakuan tahapan penelitian. Semua botol kultur yang berisi eksplan untuk setiap tahap penelitian dipelihara pada ruang inkubasi untuk pertumbuhan eksplan. Ruang inkubasi diatur suhunya pada kisaran  $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  dengan fotoperiodisme 12L/12D dan intensitas cahaya 500-1500 Lux (maksimal 3000 Lux).

### ***2.3. Tahapan Penelitian***

1. Multiplikasi Tunas Aksilar pada beberapa Konsentrasi PEG sebagai Pengatur Cekaman Kekeringan  
Tunas ditanam pada media multiplikasi berupa media MS yang mengandung 1-3 mg/L BAP dengan PEG pada kisaran konsentrasi 0-3% untuk melihat respon tunas dalam memperbanyak tunas aksilar dengan adanya PEG yang mengatur cekaman kekeringan. Pengamatan dilakukan setelah eksplan memberikan respon yaitu antara minggu ke 4-8 setelah penanaman.
2. Induksi pembentukan dan pertumbuhan akar tunas pada beberapa konsentrasi PEG sebagai pengatur cekaman kekeringan  
Tunas ditanam pada media induksi perakaran berupa MS setengah komposisi yang mengandung 2 g/L arang aktif dengan penambahan PEG pada konsentrasi

0-5%. Pengamatan dilakukan setelah eksplan memberikan respon yaitu antara minggu ke 8-12 setelah penanaman.

### 3. HASIL DAN DISKUSI

#### 3.1. *Multiplikasi tunas aksilar pada beberapa konsentrasi PEG sebagai pengatur cekaman kekeringan*

Pada Tabel 1 dapat dilihat bahwa tanpa pemberian PEG pada media, tingkat keberhasilan hidup eksplan mencapai 100% yang mengindikasikan bahwa pemberian BAP pada media memacu pertumbuhan tunas. Selain itu, terlihat bawah tunas yang diperlakukan mampu membentuk tunas aksilar baru. Pada pemberian konsentrasi PEG 1% didapatkan sedikit keanehan dimana pada pemberian BAP konsentrasi 2 ppm terjadi peningkatan pertumbuhan tunas serta tunas-tunas tersebut mampu membentuk tunas-tunas aksilar baru. Pada perlakuan 1 mg/L BAP dan 3 mg/L BAP tidak didapatkan hanya dengan pemberian BAP 1 mg/L eksplan tunas yang mampu bertahan hidup sedangkan pada perlakuan lainnya mengalami kematian. Pada perlakuan pemberian PEG 4% didapatkan semakin rendahnya tingkat keberhasilan hidup dengan semakin tingginya konsentrasi BAP pada media tanam tetapi pada BAP 3 mg/L didapatkan tunas-tunas yang tumbuh yang mampu membentuk tunas aksilar sedangkan pada perlakuan lainnya tidak didapatkan hal tersebut.

Pada Tabel 1 juga dapat dilihat bahwa penambahan PEG sebagai senyawa pengatur cekaman kekeringan menyebabkan tunas aksilar sangat sulit untuk *terinisiasi* pembentukannya. Pada perlakuan 2-3% PEG terlihat tidak adanya tunas aksilar yang terbentuk sama sekali sedangkan pada perlakuan 1% PEG terlihat ada perlakuan yang menghasilkan tunas aksilar yaitu pada penambahan 2 mg/L BAP. Pada perlakuan 4% PEG terlihat adanya pembentukan tunas aksilar pada media dengan penambahan 3 mg/L BAP yang berkemungkinan eksplan telah bisa beradaptasi dengan kondisi cekaman tersebut (Gambar 2 pada Lampiran).

Dragiiska *et al* (1996) memakai konsentrasi PEG 5-10% pada seleksi cekaman kekeringan tanaman Alfalfa (*Medicago sativa*). Pada umumnya untuk

tumbuhan berkayu seperti kopi (Tirtoboma, 1997) *Eucalyptus grandis*, *Picea mariana*, *Pinus banksiana* (Fan dan Blake, 1997), Mulbery – *Morus* sp. (Tewary *et al.*, 2000) dipakai konsentrasi PEG kisaran 1-10%, dengan konsentrasi rata-rata yang dapat ditolerir oleh tanaman tersebut berkisar antara 4-5%.

Table 1. Persentase Eksplan Andalas yang hidup dan membentuk tunas aksilar dengan penambahan beberapa konsentrasi BAP dan PEG yang diinkubasi selama delapan minggu

No	Perlakuan	Eksplan hidup (%)	(%) Eksplan membentuk tunas aksilar	Jumlah tunas aksilar
1	0% PEG + 1 mg/L BAP	100	100	6,3
2	0% PEG + 2 mg/L BAP	100	100	7,0
3	0% PEG + 3 mg/L BAP	100	100	5,6
4	1% PEG + 1 mg/L BAP	66,6	0	-
5	1% PEG + 2 mg/L BAP	100	33,3	0,33
6	1% PEG + 3 mg/L BAP	33,3	0	-
7	2% PEG + 1 mg/L BAP	33,3	0	-
8	2% PEG + 2 mg/L BAP	33,3	0	-
9	2% PEG + 3 mg/L BAP	33,3	0	-
10	3% PEG + 1 mg/L BAP	33,3	0	-
11	3% PEG + 2 mg/L BAP	0	0	-
12	3% PEG + 3 mg/L BAP	0	0	-
13	4% PEG + 1 mg/L BAP	33,3	0	-
14	4% PEG + 2 mg/L BAP	66,6	0	-
15	4% PEG + 3 mg/L BAP	33,3	33,3	0,33

El-Rahman *et al* (2007) menyatakan bahwa penambahan konsentrasi PEG pada media pembentukan tunas akan menghalangi pembentukan tunas-tunas baru. Hal tersebut dikarenakan kemampuan eksplan untuk menyerap zat pengatur tumbuh dari golongan sitokinin terhalangi selain menghambat penyerapan air dan garam mineral oleh sel-sel yang berinteraksi langsung dengan media tanam. Hasil dari penambahan PEG pada media induksi pembentukan tunas baru adalah penghambatan pertumbuhan tunas pucuk dan penurunan bahkan menghambat pembentukan tunas baru secara progresif.

### 3.2. Induksi pembentukan dan pertumbuhan akar tunas pada beberapa konsentrasi PEG sebagai pengatur cekaman kekeringan

Pada Tabel 2 dapat dilihat bahwa terjadi peningkatan persentase eksplan yang berhasil hidup dan membentuk akar pada media dengan pemberian PEG dengan

kontrol yang tumbuh baik. Pada perlakuan PEG 1% hanya 8,33% sampel yang berhasil hidup dan membentuk akar seperti halnya perlakuan PEG 2% dengan keberhasilan hidup 33,33%. Pada perlakuan PEG 3% dan 4% terjadi peningkatan keberhasilan hidup dan pembentukan akar sebesar 41,66%. Peningkatan tersebut tidak diikuti dengan peningkatan pertumbuhan eksplan yang ditanam pada media. Eksplan yang diperlakukan memperlihatkan pertumbuhan yang lambat dengan akar yang dihasilkan sedikit. Tunas yang ditumbuhkan mengalami kekerdilan.

Tabel 2. Pembentukan akar dan visualisasi tunas Andalas pada beberapa konsentrasi PEG sebagai pengatur cekaman kekeringan setelah 12 minggu.

No	Perlakuan	% eksplan membentuk akar	Pengamatan visualisasi
1	MS(HS) + 2 mg/L NAA + 2 g/L arang aktif + 0% PEG	100,00	akar yang terbentuk tumbuh dengan baik, media tanam telah dipenuhi oleh akar yang telah mengeras yang menunjukkan bahwa planlet siap untuk diaklimatisasi dengan pertumbuhan yang optimum, tunas tumbuh dengan sempurna.
2	MS (HS) + 2 mg/L NAA + 2 g/L arang aktif + 1% PEG	8,33	akar tumbuh dengan baik dan telah terlihat memanjang dan mengeras pada media, tunas bertahan hidup namun tidak mengalami pertumbuhan yang cukup baik.
3	MS (HS) + 2 mg/L NAA + 2 g/L arang aktif + 2% PEG	33,33	akar tumbuh dengan baik dan telah terlihat memanjang dan mengeras pada media, tunas bertahan hidup namun tidak mengalami pertumbuhan yang cukup baik.
4	MS (HS) + 2 mg/L NAA + 2 g/L arang aktif + 3% PEG	41,66	akar telah tumbuh dengan baik dan mengalami pengerasan namun tidak begitu banyak serta tidak begitu panjang, pertumbuhan tunas terganggu dan mengalami kekerdilan.
5	MS (HS) + 2 mg/L NAA + 2 g/L arang aktif + 4% PEG	41,66	akar telah tumbuh dengan baik dan mengalami pengerasan namun tidak begitu banyak serta tidak begitu panjang, pertumbuhan tunas terganggu dan mengalami kekerdilan.

Pada Gambar 2 (Lampiran) juga dapat dilihat perbedaan pertumbuhan antara eksplan kontrol yang tidak diberi perlakuan konsentrasi PEG dengan

eksplan yang diberi perlakuan PEG. Pada kontrol terlihat pertumbuhan yang bagus dan daun kelihatan subur sedangkan pada perlakuan PEG tidak terlihat pertumbuhan daun yang bagus, bahkan daun mengalami kematian akibat kurangnya pasokan nutrisi untuk kehidupan dan pertumbuhan daun. Pertumbuhan akar pun cukup sulit dikarenakan keterbatasan pasokan energi dari pucuk sehingga akar tidak mampu melakukan tugasnya dengan baik. Pada kontrol pertumbuhan tunas sangat pesat karena tidak ada penghalang penyerapan nutrisi dan senyawa yang ada pada medium.

Penelitian yang dilakukan oleh Ahmad *et al* (2007), mendapatkan hasil pertumbuhan eksplan Mulberry yang lebih baik pada media induksi perakaran tanpa pemakaian senyawa penyeleksi cekaman garam setelah eksplan diseleksi pada media cekaman garam sebelumnya. Pada penelitian tersebut, pembentukan dan pertumbuhan akar semakin menurun akibat tingginya cekaman garam yang diperoleh oleh eksplan. Selain itu, jika eksplan sebelumnya telah mengalami seleksi dengan senyawa yang sama akan tetap memberikan tingkat keberhasilan pembentukan akar yang semakin rendah seiring dengan tingginya konsentrasi garam pada media pembentukan akar.

#### **4. KESIMPULAN**

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Multiplikasi tunas aksilar pada sampel tunas tidak dapat berlangsung dengan baik akibat adanya 1-3% PEG pada media yang kemungkinan menghalangi penyerapan BAP untuk merangsang aktifitas pembentukan tunas aksilar.
2. Induksi pembentukan dan pertumbuhan akar terhalangi akibat adanya 1-4% PEG pada media dimana semakin tinggi konsentrasi PEG semakin sedikit akar yang dihasilkan dan tunas mengalami kekerdilan.

#### **5. UCAPAN TERIMAKASIH**

Penulis mengucapkan terimakasih pada proyek Hibah Strategis Nasional tahun 2009 yang telah mendanai penelitian ini dan pada tim peneliti *Morus macrourea* (Andalas) Laboratorium Fisiologi Tumbuhan atas kerjasamanya.

## 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 Compounds 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<sub>3</sub> Tolerant Cultivars of *Morus alba* (Local and Sujanpuri) in Response to Morphological and Biochemical Parameters. *Hort. Sci. (Prague)* 34 (3) : 114-122.
- Bates, L. S., R. P. Waldren and I. D. Teare. 1973. Rapid Determination of Free Proline for Water Stress Studies. *Plant and Soil* 39 (1) : 205-207.
- Dahlan, S. 1994. Mengenal *Morus macroura* Miq. Maskot Flora Sumatera Barat. *Jurnal Penelitian Andalas* 15 : 17-20.
- Dami, I., and H. Hughes. 1997. Effects of PEG-Induced Water Stress on *In Vitro* Hardening of *Valianta Grape*. *Plant Cell, Tissue and Org. Cult.* 47 (2) : 97-101.
- Darmansyah. 1993. *Respon Pertumbuhan Potongan Daun Andalas (Morus macroura Miq.) dengan Penambahan IAA dan Kinetin pada Medium Murashige-Skoog*. Skripsi Sarjana Biologi FMIPA Universitas Andalas. Padang.
- Dragiiska, R., D. Djilianov, P. Denchev and A. Atanassov. 1996. *In Vitro* Selection for Osmotic Tolerance in Alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Bulg. J. Plant Physiol.* 22 (3-4) : 30-39.
- El-Rahman, A., M. F. Al-Ansary, A. A. Rizkalla and A. M. Badr-Elden. 2007. Micropropagation and Biochemical Genetic Markers Detection for Drought and Salt Tolerance of Pear Rootstock. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 1 (4) : 625-636.
- 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.
- Harinasut, P., D. Poonsopa, K. Roengmongkol, and R. Charoensataporn. 2003. Salinity Effects on Antioxidant Enzymes in Mulberry Cultivar. *Science Asia* 29: 109-113.
- Lawlor, D. W. 1970. Absorption of Polyethylene Glycols By Plants and Their Effects on Plant Growth. *New Phytol.* 69 : 501-513.
- Mohammadkhani, N., and R. Heidari. 2008. Drought-Induced Accumulation of Soluble Sugars and Proline in Two Maize Varieties. *World Applied Science Journal* 3 (3): 448-453.
- Safarnejad, A. 2008. Morphological and Biochemical Response to Osmotic Stress In Alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Pak. J. Bot.* 40(2): 735-746
- Suwirman. 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 Promising 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.
- Vajrabhaya, M., W. Kumpun, and S. Chadchawan. 2001. The Solute Accumulation : The Mechanism for Drought Tolerance in RD23 Rice (*Oryza sativa* L.) Lines. *Science Asia* 27: 93-97.

#### LAMPIRAN



Gambar 1. Kombinasi PEG dan BAP yang dapat ditolerir oleh tunas Andalus untuk hidup dan menghasilkan tunas aksilar : A). 1% PEG + 2 mg/L BAP dan B). 4% PEG + 3 mg/L BAP (tanda panah menunjukkan tunas aksilar yang terbentuk)



Gambar 2. Induksi perakaran pada media induksi akar dengan penambahan beberapa konsentrasi PEG sebagai pengatur cekaman kekeringan.

A) kontrol tunas Andalus tanpa perlakuan PEG, B). Kontrol tunas hasil seleksi pada media tanpa PEG, C) 1% PEG; D) 2% PEG; E) 3% PEG dan F) 4% PEG.