

VARIASI SOMAKLONAL TANAMAN KANTONG SEMAR (*NEPENTHES MIRABILIS* DAN *N. GRACILIS*) SECARA *IN VITRO* DENGAN MUTAGEN KIMIA KOLKISIN

FITRI DAMAYANTI

fitridamayantineng_@gmail.com

Program Studi Pendidikan Biologi Fakultas Teknik, Matematika & IPA
Universitas Indraprasta PGRI, Jalan Nangka No. 58 Jagakarsa Jakarta Selatan

IKA ROOSTIKA

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik
Pertanian,
Jalan Tentara Pelajar 3A Bogor 16111

Abstract. *Nepenthes* are potential to be commercialized because of the shape and color of their unique pitcher. Generally, people are interested in new and rare types which have unique color, shape, and size of pitcher. However, the increase of its demand has led to the decrease of natural populations due to overexploitation in the natural habitats in Indonesian forests without sufficient cultivation or replacement efforts. The genetic erosion has resulted in low level variation of this species. *In vitro* plant breeding can be carried out through somaclonal variation. The objective of this study was to obtain somaclonal variation method by using colchicin as a chemical mutagen. *In vitro* shoot of *N. mirabilis* and *N. gracilis* were used in this research as explant that planted in ¼ MS + colchicin at the level of 0, 0.05, 0.075, and 0.1%. The application of colchicin could produced cultures with high level of growth than control. The best result was obtained from colchicin at a level of 0.05% as a alternative *in vitro* to improve genetic variation.

Key words: *N. mirabilis*, *N. gracilis*, somackonal variation, colchicin

PENDAHULUAN

Tanaman *Nepenthes* tersebar mulai dari Australia bagian utara, Asia Tenggara hingga Cina bagian selatan. Dari 84 jenis *Nepenthes* dunia, 64 jenis di antaranya terdapat di Indonesia dengan populasi terbanyak di Kalimantan (Mansur, 2006). Tanaman karnivora ini termasuk tanaman yang dilindungi karena berada dalam status langka dan hampir punah. Di Indonesia tanaman ini dilindungi oleh Undang-Undang Nomor 5 tahun 1990 tentang Konservasi Sumber Daya Alam Hayati dan Ekosistemnya yang ditindaklanjuti dengan Peraturan Pemerintah Nomor 7 Tahun 1999 tentang Jenis-Jenis Tumbuhan dan Satwa yang Dilindungi.

Tanaman ini mempunyai potensi yang baik untuk dikembangkan karena daya tarik estetika dalam penampilannya yaitu memiliki bentuk, ukuran, dan corak warna kantong yang menarik. Permintaan masyarakat terhadap tanaman hias *Nepenthes* semakin meningkat sejalan dengan meningkatnya taraf hidup dan minat akan keunikan. Selera konsumen secara umum lebih tertarik pada jenis-jenis baru yang langka, mempunyai kantong dengan warna, bentuk dan ukuran yang unik, dan lebih beragam. Namun demikian, selama ini tanaman *Nepenthes* yang diperjualbelikan adalah hasil eksploitasi dari hutan-hutan terutama di daerah Kalimantan tanpa adanya upaya pembudidayaan. Konsekuensinya, tanaman ini menjadi salah satu tanaman yang termasuk dalam kategori langka dengan tingkat erosi genetik yang tinggi.

Keragaman genetik yang tinggi merupakan salah satu faktor utama dalam upaya pemuliaan atau perbaikan sifat tanaman. Varietas-varietas baru yang lebih indah dan

menarik dapat diperoleh dengan mendatangkan jenis atau varietas dari luar negeri tetapi memerlukan waktu adaptasi dan seleksi yang relatif lama serta umumnya lebih rentan terhadap hama dan penyakit setempat. Selain itu, persilangannya dengan varietas lokal seringkali tidak efisien karena adanya kendala inkompatibilitas seksual.

Salah satu teknologi yang dapat digunakan untuk mengatasi permasalahan tersebut adalah teknik kultur *in vitro*. Perbaikan tanaman secara *in vitro* dilakukan antara lain melalui keragaman somaklonal (Ahloowalia, 1982; Duncan dan Widholm, 1990; Van den Bulk, 1991) Keragaman somaklonal dapat dilakukan dengan menggunakan mutagen kimia (Hasan *et al.*, 1991; Mariska *et al.*, 1995; Damayanti dan Mariska, 2003) dan fisik (Novak *et al.*, 1990; El-Fiki, 1997; Yoshioka *et al.*, 1999; Mathius and Haris, 1999). Kolkisin adalah jenis mutagen kimia umum yang digunakan untuk meningkatkan keragaman genetik. Telah banyak dilaporkan keberhasilan kolkisin dalam menghasilkan mutan.

Setiap jenis atau varietas tanaman memiliki daya ketahanan yang berbeda terhadap konsentrasi kolkisin yang diberikan sehingga suatu metode yang berhasil diterapkan pada suatu jenis atau varietas tanaman tidak langsung dapat diterapkan pada jenis atau varietas lainnya. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mendapatkan metode yang efektif untuk menghasilkan keragaman somaklonal yang tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan dosis mutagen kimia kolkisin yang efektif meningkatkan keragaman somaklonal sehingga dapat dihasilkan mutan-mutan yang menarik.

Hasil penelitian ini diharapkan berdampak luas bagi pengembangan komoditi *Nepenthes* secara komersial dan peningkatan pendapatan petani tanaman hias. Selain itu, juga akan memberi dampak pada peningkatan keragaman genetik (plasma nutfah) sebagai sumber gen dalam program pemuliaan tanaman dan sekaligus secara tidak langsung akan berdampak positif pada upaya pelestarian tanaman *Nepenthes* secara kultur *in vitro*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan kolaborasi antara Universitas Indraprasta, Jakarta dan Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Sumberdaya Genetik Pertanian (BB-Biogen), Bogor. Dua spesies *Nepenthes* yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu *N. mirabilis* dan *N. gracilis*. Tahapan kegiatan penelitian ini adalah induksi mutasi eksplan secara kimia dan *recovery* dan regenerasi biakan pasca mutasi.

Induksi Mutasi secara Kimia

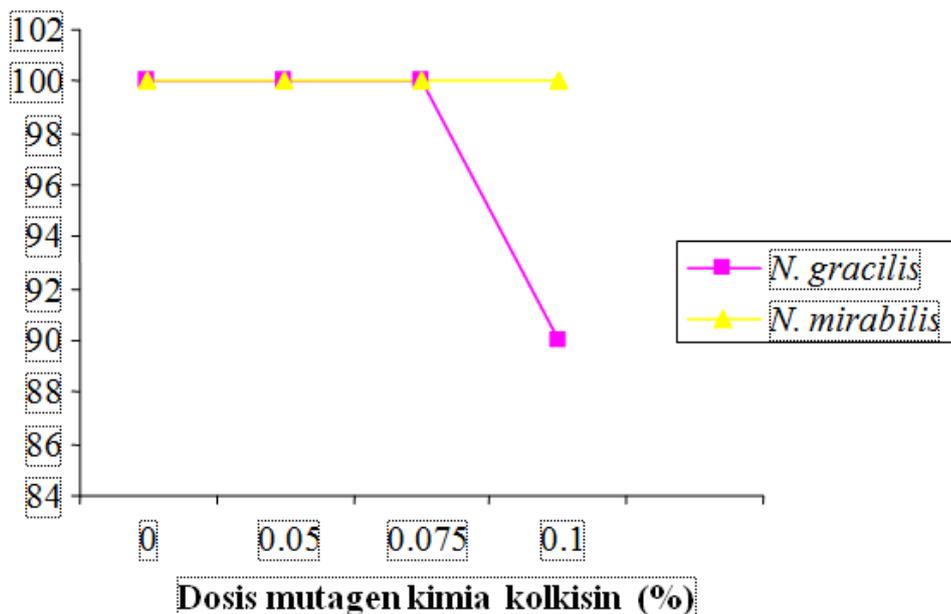
Eksplan yang digunakan pada tahap ini adalah tunas *in vitro* *N. mirabilis* dan *N. gracilis*. Taraf kolkisin yang digunakan yaitu 0, 0.05, 0.075, dan 0.1% dengan lamanya perendaman 3 hari masing-masing dengan lima ulangan. Setelah perlakuan kolkisin eksplan dipindahkan dalam media regenerasi yaitu media dasar Murashige and Skoog dengan pengenceran 4 kali. Eksplan diinkubasikan selama 2 bulan. Peubah yang diamati adalah persentase hidup biakan, LD₅₀, jumlah dan tinggi tunas, jumlah daun, jumlah kantong, dan penampakan biakan secara visual.

Recovery dan Regenerasi Biakan Pasca-Mutasi

Tahapan kegiatan ini dilakukan untuk melihat kemampuan *recovery* biakan pasca mutasi. Pada tahap ini, biakan yang pulih setelah perlakuan mutasi disubkultur secara rutin minimal setiap 1 bulan untuk memacu kecepatan tumbuhnya.

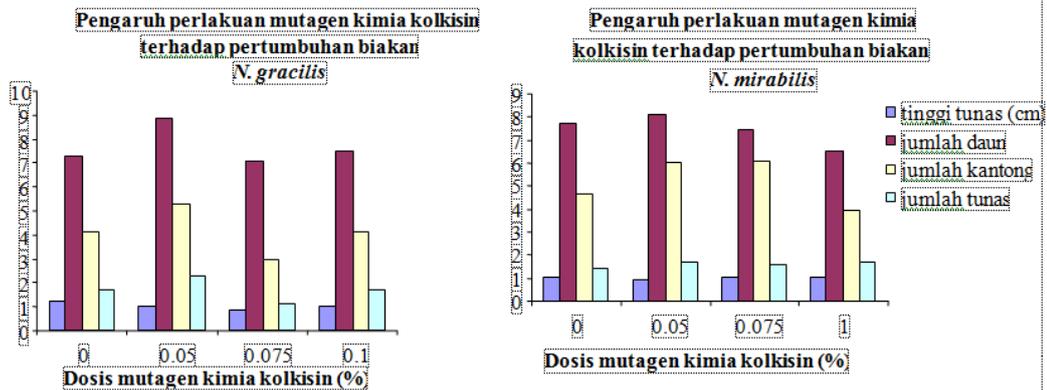
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini memperlihatkan semua tunas *N. mirabilis* mampu hidup 100% pada semua perlakuan kolkisin, sedangkan *N. gracilis* mampu hidup 100% kecuali pada perlakuan 0.1% tunas mampu hidup sebesar 90%. Dari hasil yang diperoleh terlihat bahwa tunas *Nepenthes* memiliki ketahanan yang tinggi terhadap mutagen kolkisin terlihat dari masih tingginya persentase hidup tunas pada konsentrasi kolkisin yang paling tinggi (0.1%). Kolkisin adalah senyawa mutagen kimia yang dapat menghambat pembentukan benang-benang gelendong yang pada akhirnya dapat menghambat pertumbuhan bahkan dapat menyebabkan kematian tanaman. Namun pada penelitian ini tunas *Nepenthes* mampu hidup walaupun pada konsentrasi yang paling tinggi (0.1%). Hal ini berbeda dengan hasil penelitian Damayanti dan Mariska (2003) pada tanaman panili.



Gambar 1. Pengaruh dosis mutagen kimia kolkisin terhadap persentase hidup tunas *N. mirabilis* dan *N. gracilis*.

Induksi mutasi secara kimia dengan menggunakan kolkisin ternyata mampu meningkatkan pertumbuhan biakan, terlihat dari kemampuan biakan hasil perlakuan kolkisin menunjukkan pertumbuhan yang lebih baik dari pada kontrol (Gambar 2). Konsentrasi kolkisin bersifat kritis dimana konsentrasi yang beragam menyebabkan pengaruh yang beragam pula. Berbagai konsentrasi kolkisin memberikan pengaruh yang berbeda-beda terhadap parameter-parameter pertumbuhan, antara lain tinggi tunas, jumlah daun, jumlah kantong yang terbentuk, dan tingkat multiplikasi tunas. Pertumbuhan biakan terbaik (tinggi tunas jumlah kantong, jumlah daun, dan jumlah tunas) dihasilkan pada perlakuan kolkisin 0.05%. Hal ini diduga kolkisin pada taraf 0.05% mampu menginduksi pertumbuhan tunas *Nepenthes*.



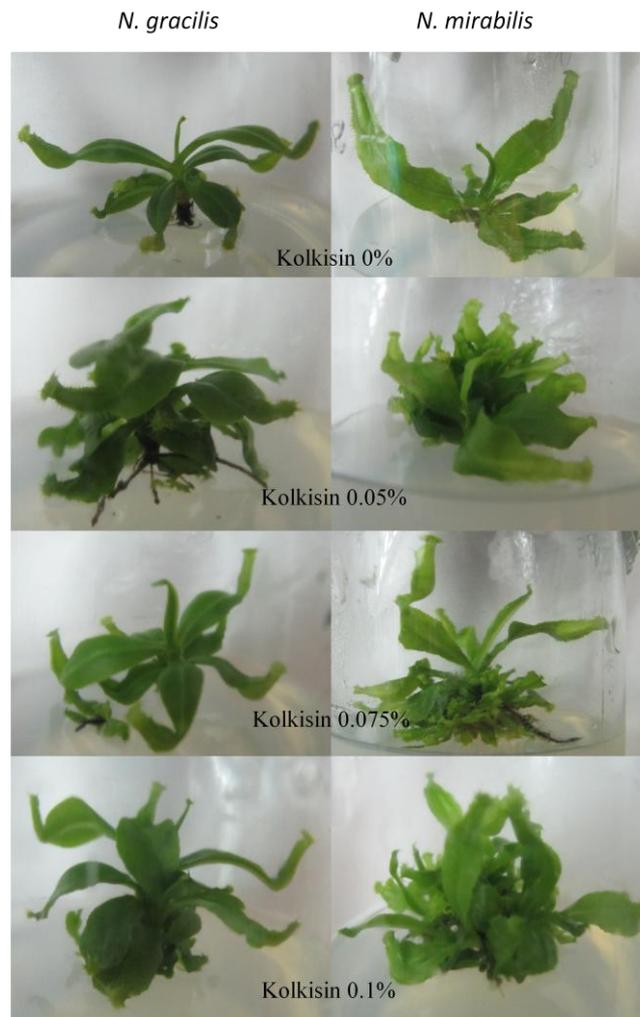
Gambar 2. Pengaruh perlakuan mutagen kimia kolkisin dengan lama perendaman 3 hari terhadap pertumbuhan biakan *N. gracilis* dan *N. mirabilis* umur dua bulan setelah perlakuan.

Hasil pengamatan secara visual terlihat adanya bentukan-bentukan baru dari penampakan fenotipe, hal ini diduga telah terjadinya perubahan genetik pada setiap perlakuan. Pada Gambar 3 dapat dilihat penampakan biakan umur dua bulan setelah perlakuan kolkisin. Biakan tanpa perlakuan mutagen kolkisin memiliki tunas yang berwarna hijau tua sedangkan biakan dengan perlakuan kolkisin memiliki tunas yang berwarna hijau muda dan memiliki tingkat multiplikasi yang tinggi. Bahkan pada beberapa biakan mampu merangsang pembentukan kalus dan dihasilkan somaklon yang bersifat varigata.

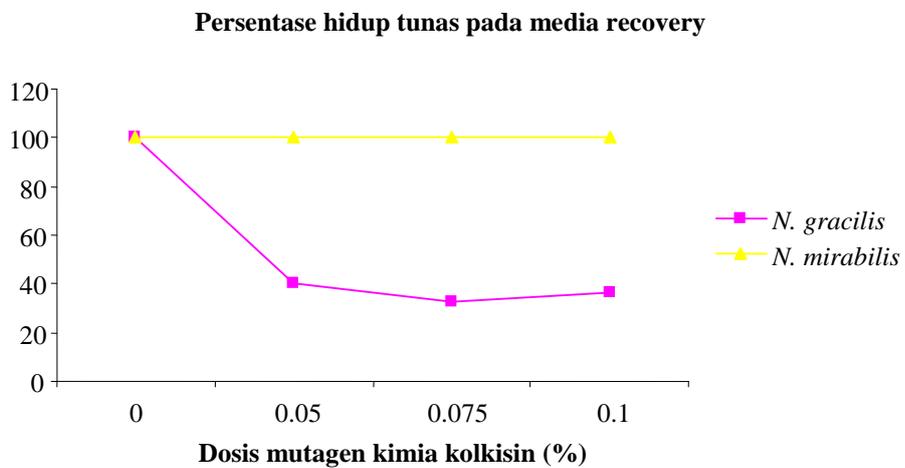
Recovery dan Regenerasi Biakan Pasca-Mutasi

Kegiatan recovery dan regenerasi pasca mutasi dilakukan untuk melihat kemampuan biakan beregenerasi dan bermultiplikasi pasca perlakuan mutasi. Media yang digunakan adalah media dasar MS dengan pengenceran 4 kali dan dilakukan subkultur minimal 2 bulan.

Tunas *N. mirabilis* dan *N. gracilis* umur dua bulan pasca perlakuan mutagen kimia memperlihatkan kemampuan tumbuh yang lebih baik bahkan pada perlakuan 0.05% perlihatkan pertumbuhan yang lebih baik dari kontrol. Hal ini diduga perlakuan mutagen kimia kolkisin dapat memacu pertumbuhan biakan. Setelah lima bulan pasca perlakuan mutagen kimia kolkisin, tunas *N. mirabilis* mampu tumbuh 100% pada semua perlakuan mutagen kimia kolkisin. Tunas yang pada awalnya mengalami kematian akibat mutagen kolkisin setelah perlakuan pada media recovery ternyata mampu tumbuh menjadi tunas bahkan dengan pertumbuhan yang lebih dari kontrol. Sedangkan pada tunas *N. gracilis* kemampuan hidup tunas sangat rendah (Gambar 4). Hal ini diduga perlakuan kolkisin berpengaruh lambat terhadap kerusakan fisiologis yang baru berpengaruh setelah lima bulan perlakuan. Perbedaan daya adaptasi antara *N. gracilis* dan *N. mirabilis* diduga setiap tanaman memiliki daya ketahanan yang berbeda terhadap perlakuan mutasi.



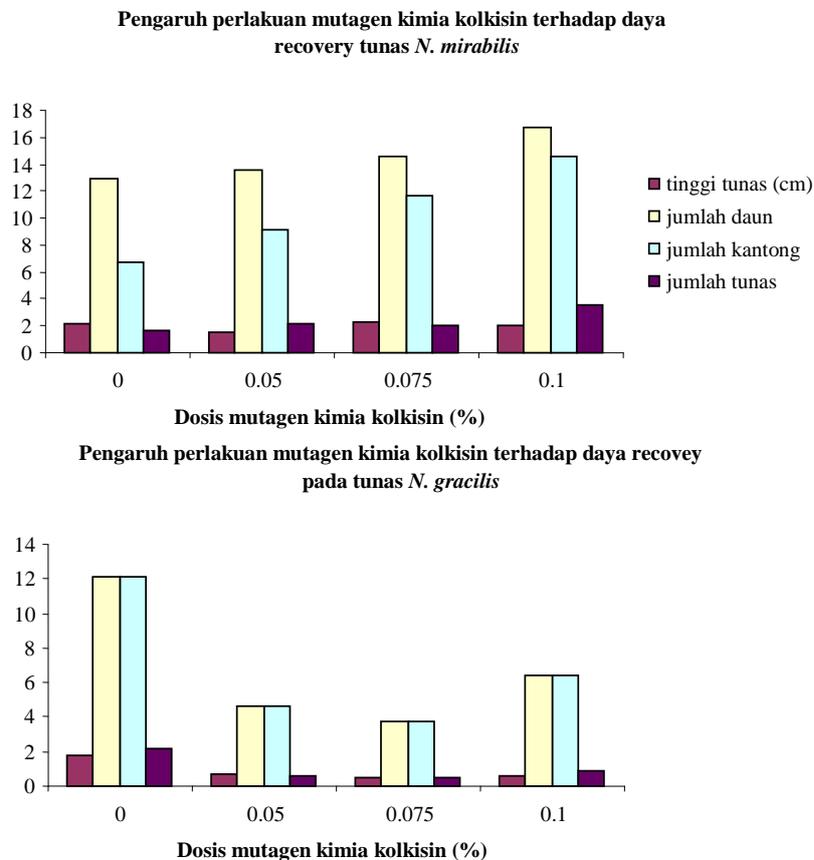
Gambar 3. Penampakan biakan tunas *N. gracilis* dan *N. mirabilis* pada perlakuan mutagen kimia kolkisin dengan lama perendaman 3 hari umur dua bulan setelah perlakuan.



Gambar 4. Persentase hidup tunas *N. gracilis* dan *N. mirabilis* pada media recovery umur lima bulan pasca perlakuan mutagen kimia kolkisin.

Tunas *N. mirabilis* setelah umur lima bulan pasca perlakuan kolkisin menunjukkan pertumbuhan yang lebih baik dari kontrol. Bahkan semakin tinggi persentase kolkisin tunas menunjukkan pertumbuhan yang jauh lebih baik dari kontrol dilihat dari tinggi tunas, jumlah daun, jumlah kantong, jumlah tunas yang dihasilkan lebih tinggi dari kontrol (Gambar 5). Hal ini merupakan fenomena yang jarang terjadi, karena umumnya perlakuan kolkisin dapat menghambat pertumbuhan kultur bahkan menyebabkan kematian kultur. Sedangkan dari hasil penelitian ini memperlihatkan dengan adanya perlakuan kolkisin ternyata dapat merangsang pertumbuhan kultur lebih baik daripada kontrol walaupun di awal perlakuan menunjukkan penghambatan pertumbuhan.

Berbeda dari tunas *N. mirabilis*, pada tunas *N. gracilis* menunjukkan penurunan daya recovery dan regenerasi pada perlakuan kolkisin 0.05 dan 0.075% tetapi kemudian terjadi peningkatan pertumbuhan pada 0.1% (Gambar 5). Perlakuan 0.1% kolkisin ternyata mampu merangsang pertumbuhan kultur lebih baik dari kontrol. Pada beberapa kultur ternyata dengan adanya perlakuan kolkisin mampu merangsang pembentukan kalus.



Gambar 5. Pengaruh perlakuan mutagen kimia kolkisin terhadap daya recovery dan regenerasi biakan *N. mirabilis* dan *N. gracilis* umur lima bulan setelah perlakuan.

PENUTUP

Simpulan

Biakan *N. mirabilis* dan *N. gracilis* mampu hidup pada semua perlakuan dosis kolkisin. Petumbuhan biakan lebih baik pada perlakuan kolkisin 0.05% dari pada kontrol. Setelah recovery tunas *N. mirabilis* menunjukkan pertumbuhan yang lebih baik dari kontrol hal ini berarti mutagen kolkisin mampu merangsang pertumbuhan tunas *Nepenthes*. Sebaliknya pada *N. gracilis* pasca perlakuan mutasi tunas mengalami penurunan pertumbuhan. Pada beberapa perlakuan mutasi dihasilkan biakan yang mampu membentuk kalus dan dihasilkan tanaman varigata.

Saran

Perlu dilakukan pengujian somaklon di rumah kaca untuk melihat apakah mutasi yang terjadi bersifat genetik atau epigenetik dan perlu dilakukan percobaan dengan dosis kolkisin yang berbeda dengan lama perendaman yang berbeda.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi DP₂M yang telah mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahloowalia, B. S. 1986. **Limitations to the use of somaclonal variation in crop improvement.** In: Semal, J. editor. Somaclonal Variation and Crop Improvement. New York: Martunus Nijhoff Publisher.
- Damayanti, F. dan I. Mariska. 2003. **Induksi poliploidi pada hibrid F1 hasil persilangan antar spesies pada tanaman panili secara *in vitro*.** *Jurnal Ilmiah Mulawarman Scientifie* 2(2): 12-17.
- Duncan, D. R. and J. M. Widholm. 1990. **Techniques for selecting mutan from plant tissue culture.** In: J. W. Pollaer, J. M. Walker, editor. Methods in Mulecular Biology. Vol ke-6. Plant Cell, Tissue Culture. New York: The Human Press. hlm 443-465.
- El-Fiki, A.A.M. 1997. **Induction of genetic variability by using gamma radiation and selection for salt tolerance *in vitro* in potato (*Solanum tuberosum*).** *J. Genet & Breed* 51: 309-312.
- Hasan L, Jones RN, Parker JS and Posselt UK. 1991. **Colchicine induced heritable variation in cell size and chloroplast number in the leaf cells of inbredrye grasses (*Lolium perenne*, *L. multiforum*).** *Euphytica* 52, 39-45.
- Mansur, M. 2006. **Nepenthes – Kantong Semar yang Unik.** Jakarta: Penebar Swadaya.
- Mariska, I., D. Seswita. and R. Purnamaningsih. 1995. **Improvement of genetic variation on patchouli plant using mutagen colchicine.** *Evaluation Prosiding* I: 34-39.
- Mathius, N. T. and N. Haris. 1999. **Induction of genetic variation of banana cv nangka by gamma Co-60 irradiation and fusaric acid.** *Menara Perkebunan* 67: 13-22.
- Novak, F.J., R. Afra., M. Van Duren. and M.S. Omar. 1990. **Mutation induction by gamma irradiation of *in vitro* cultured shoot-tips of banana and plantain (*Musa cvs*).** *Trop Agric* 67: 21-89.
- Peraturan Pemerintah Nomor 7. 1999. **Jenis-Jenis Tumbuhan dan Satwa yang Dilindungi.** Jakarta.
- Undang-Undang Nomor 5. 1990. **Konservasi Sumber Daya Alam Hayati dan Ekosistemnya.** Jakarta.

- Van den Bulk, R.W. 1991. **Application of cell dan tissue culture dan *in vitro* selection for disease resistance breeding – a review.** *Euphytica* 56:269-285.
- Yoshioka, T., T. Matsuda., K. Kotobuki., T. Sanada. and Y. Ito. 1999. **Gamma-ray-induced mutation breeding in fruit trees: breeding of mutant cultivars resistant to black spot disease in Japans pear.** *JARQ* 33: 227-234.