

Optimasi dan Evaluasi Secara Fisik Kondisi Biji Tomat (*Lycopersicum esculentum*) yang telah Dibawa ke Luar Angkasa dengan Kultur Jaringan

Maria Almeida^{1,2*}, Rizkita Rachmi Esyanti², Fenny Martha Dwivany²

¹ Labolatorium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda Kalimantan Timur

² Kelompok Keilmuan Sains dan Bioteknologi Tumbuhan, Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung, Jalan Ganesha 10, Bandung 40132, Indonesia

*E-mail: mariaalmaida@farmasi.unmul.ac.id

Abstract

Tomatoes (*Lycopersicum esculentum*) are plants in the Solanaceae group that have high economic value. The increased demand for tomatoes can cause the need for tomato seeds to increase. Productivity can be increased one of them by radiation. Tomato seeds that are taken into space are physically evaluated using SEM. SEM observations show that in space seeds there is a hollow or porous surface, which is thought to be due to the influence of cosmic radiation. Conventional propagation (in-vivo) is difficult to apply, partly because there are obstacles to disease attacks caused by fungi, bacteria, and viruses that can be carried in the seeds. Therefore, we need one way to overcome the problem of the production of disease-free seeds, namely by in vitro using tissue culture. The success of tissue culture requires several supporting conditions, including the use of the right medium, good explants, aseptic conditions, and the right environmental factors. Thus, an optimization is carried out to obtain the in-vitro protocol, which can be used to produce uniform seedlings. The results show that the optimal protocol for propagation of tomato seedlings is MS medium with the addition of 0.2 ppm IAA and 2 ppm BAP. While the medium for rooting is MS with the addition of 1 ppm IBA. Seedlings can be acclimatized and grown ex vitro with a success rate of 98%.

Keywords: *Lycopersicum esculentum*, Tissue Culture, Seed Propagation, MS, Ex-vitro, SEM

Abstrak

Tomat (*Lycopersicum esculentum*) adalah tanaman kelompok Solanaceae yang memiliki nilai ekonomi yang tinggi. Permintaan buah tomat yang meningkat dapat menyebabkan kebutuhan bibit tomat meningkat. Produktivitas dapat ditingkatkan salah satunya dengan cara radiasi. Biji Tomat yang dibawa ke luar angkasa, dievaluasi secara fisik dengan menggunakan alat SEM. Pengamatan SEM menunjukkan bahwa pada biji luar angkasa terdapat adanya permukaan berlubang atau berpori, yang diduga akibat pengaruh radiasi kosmik. Perbanyakan secara konvensional (in-vivo) sulit diterapkan, antara lain karena adanya kendala serangan penyakit yang disebabkan oleh jamur, bakteri, dan virus yang dapat terbawa dalam biji. Oleh karena itu, diperlukan satu cara untuk mengatasi masalah produksi bibit yang bebas penyakit, yaitu dengan cara in vitro menggunakan kultur jaringan. Keberhasilan kultur jaringan memerlukan beberapa kondisi yang mendukung, antara lain penggunaan medium yang tepat, eksplan yang baik, kondisi aseptik, dan faktor lingkungan yang tepat. Sehingga, dilakukan optimasi untuk mendapatkan protokol in-vitro,

yang dapat digunakan untuk menghasilkan bibit yang seragam. Hasil menunjukkan bahwa protokol untuk perbanyak bibit tomat yang telah optimal adalah medium MS dengan penambahan 0,2 ppm IAA dan 2 ppm BAP. Sedangkan medium untuk perakaran adalah MS dengan penambahan 1 ppm IBA. Bibit dapat diaklimatisasi dan ditumbuhkan *ex vitro* dengan tingkat keberhasilan 98 %.

Kata Kunci: *Lycopersicum esculentum*, Kultur Jaringan, Perbanyak Bibit, MS, Ex-vitro, SEM

Submitted: 16 Juli 2020

Accepted: 07 Agustus 2020

DOI: <https://doi.org/10.25026/jsk.v2i4.225>

■ Pendahuluan

Tomat (*Lycopersicum esculentum*) merupakan tanaman suku Solanaceae yang bernilai gizi dan ekonomi yang tinggi. Rata-rata produksi tomat tahun 2000 tercatat 80 kg/ha. Angka tersebut masih sangat rendah jika dibandingkan dengan potensi produksinya sebesar 150 ton/ha [1]. Saat ini, produktivitas tomat bahkan mengalami penurunan, padahal permintaan tomat meningkat.

Metode perbanyak bibit tomat dapat secara konvensional (*in vivo*) maupun kultur jaringan (*in vitro*). Metode konvensional (*in vivo*) sulit diterapkan, antara lain karena adanya kendala serangan patogen yang dapat terbawa dalam biji. Oleh karena itu, diperlukan satu cara untuk mengatasi masalah produksi bibit serta mendapatkan bibit yang banyak dan bebas penyakit dalam waktu relatif singkat, antara lain adalah melalui pembibitan secara kultur jaringan [2]. Tanaman hasil kultur jaringan juga memiliki sifat yang sama dengan induknya [3], sehingga apabila pada uji *in vivo* diperoleh tanaman yang unggul, maka dapat dilanjutkan dengan perbanyak *in vitro* untuk mendapatkan bibit tanaman dalam jumlah banyak dan karakter yang seragam.

Keberhasilan kultur jaringan memerlukan beberapa kondisi yang mendukung, antara lain penggunaan medium yang tepat, eksplan yang baik, kondisi aseptik, dan faktor lingkungan yang tepat. Medium yang biasanya cocok pada hampir semua tanaman adalah medium Murashige & Skoog (MS). Penelitian sebelumnya pada salah satu kelompok Solanaceae, yaitu *Capsicum annum* L, menunjukkan bahwa terdapat pengaruh auksin (IAA) dan sitokinin (BAP) terhadap daya multiplikasi pucuk cabai [4]. Pada penelitian tersebut, kondisi optimal diperoleh dengan

penambahan IAA sebesar 1 ppm dan BAP sebesar 5 ppm.

Pucuk yang terbentuk secara *in vitro* seringkali belum memiliki akar, sehingga diperlukan induksi perakaran *in vitro*. Zat pengatur tumbuh yang sering digunakan untuk menginduksi perakaran *in vitro* adalah IBA [5]. Konsentrasi IBA yang diperlukan untuk menginduksi akar tergantung pada jenis tumbuhan dan jenis eksplan. IBA dapat dikombinasikan dengan sitokinin dan giberelin, tetapi untuk menginduksi perakaran akan lebih baik hanya dengan penambahan IBA saja [6].

■ Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan bahan berupa biji tomat (*Lycopersicum esculentum*) yang telah dibawa ke ruang angkasa dan biji tomat kontrol dari kultivar *Arthaloka*. Jenis penelitian ini adalah eksperimental. Penelitian *in-vitro* menggunakan rancangan acak kelompok (RAK). Data hasil penelitian dianalisis secara statistik dengan analisis ANOVA yang dilanjutkan dengan uji DMRT (uji Duncan). Penelitian secara *in-vitro* dilakukan di laboratorium Fisiologi Tumbuhan ITB.

Sterilisasi alat dan bahan penelitian

Laminar air flow (LAF) disterilisasi dengan disemprotkan alkohol 70 % ke semua bagian, dan kemudian disinari sinar UV selama 30 menit. Sterilisasi aquades dan peralatan dilakukan dengan autoklaf pada suhu 121 °C dan tekanan 15 lb/cm² selama 15 menit. Sterilisasi eksplan dilakukan dengan cara mencuci eksplan biji dengan air selama 1×24 jam, setelah itu dilakukan sterilisasi permukaan dengan cara merendam eksplan dalam larutan natrium hipoklorit 15 %,

dikocok selama 7 menit, diakhiri dengan pembilasan menggunakan aquades steril sebanyak 5 kali sampai bebas hipoklorit.

Media Perkecambahan

Perkecambahan biji *in vitro* dilakukan dalam medium Murashige & Skoog (MS) dengan penambahan agar 8 g/L. Pada perkecambahan biji tidak diberikan zat pengatur tumbuh. Derajat keasaman pH antara 5,6-5,8. Medium disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C pada tekanan 15 lb/cm² selama 15 menit.

Media Inisiasi

Pada media inisiasi pucuk digunakan media MS (Murashige dan Skoog) yang ditambahkan IAA (0; 0,2 mg/L) dan BAP (0; 2; 4 mg/L) untuk mendapatkan media terbaik mikropropagasi tomat.

Tabel 1. Kombinasi Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh Untuk Inisiasi

	IAA	
BAP \ IAA	0	0,2
0	IB1	IB2
2	IB3	IB4
4	IB5	IB6

Media Perakaran

Media perakaran yang digunakan adalah media MS. Kemudian ditambahkan IBA konsentrasi 0 ; 0,5 ; 1 mg/L untuk mendapatkan pertumbuhan akar terbaik pada tomat hasil mikropropagasi.

Aklimatisasi

Tanaman (planlet) yang diperoleh dari medium perakaran diaklimatisasi dengan cara dikeluarkan dari botol kultur, lalu dicuci dengan air sampai tidak ada lagi agar yang menempel di akar. Selanjutnya planlet ditanam pada pot kecil berisi campuran tanah, kompos, dan pasir (1: 1: 1) yang steril, lalu disemprot ½ MS dan ditutup plastik transparan selama 2 minggu.

Analisis Fisik

Pengujian untuk melihat permukaan biji sampel dilakukan dengan uji SEM di Pusat Penelitian dan Pengembangan Geologi Kelautan (PPPGL) Bandung. Pengamatan dengan SEM dilakukan dengan cara menyiapkan biji sampel, kemudian diletakkan dan disebarakan merata ke seluruh permukaan *specimen holder* dengan menggunakan *double tip*. Setelah itu disemprot dengan *hand blower* atau *hand dryer* untuk mengeringkan sampel, kemudian dilakukan “coating” dengan lapisan PdAu dengan menggunakan alat coating *Fine Coat Ion Sputter JFC-1100*. Supaya menjadi konduktif, sampel diuji dengan menggunakan alat SEM *JEOL JSM 6063LA*. Foto diambil pada *Back Electronic Scatter* (BES) 10 kV.

■ Hasil dan Pembahasan

Tahap Inisiasi

Tahap inisiasi dilakukan selama 2 minggu. Pada tahap inisiasi, kecambah dipotong sepanjang 1 cm dari bagian pucuk apikal. Daerah ini merupakan daerah meristematik dimana sel-sel nya masih muda dan aktif membelah, sehingga akan semakin baik responnya saat digunakan sebagai eksplan [7].

Tabel 2. Rata-Rata Perbandingan Pertumbuhan Tahap Inisiasi

Perlakuan	Luar Angkasa		Kontrol	
	Tinggi Tanaman(cm)	Jumlah Daun	Tinggi Tanaman (cm)	Jumlah Daun
IB1	4,4	2,8	3,9	2,8
IB2	1,8	1,7	3,0	2,0
IB3	2,0	2,0	2,0	1,8
IB4	1,6	1,8	1,9	2,0
IB5	1,7	2,0	1,9	1,8
IB6	1,9	2,0	2,1	1,0

Perlakuan IB1(tanpa penambahan auksin dan sitokinin), menghasilkan pertumbuhan tanaman yang terbaik dan jumlah daun terbanyak dibandingkan perlakuan lainnya (IB2-IB6). Hal tersebut menunjukkan bahwa kandungan auksin dan sitokinin endogen dalam eksplan (IB1) tersebut sudah cukup, sehingga dapat menunjang untuk pertumbuhan pucuk walaupun tanpa diberi hormon eksogen. Sejalan dengan pendapat [8] Hormon dapat menghambat atau menginduksi pertumbuhan, tergantung konsentrasinya dalam suatu jaringan. Didukung oleh penelitian [9] pada pertumbuhan pucuk tomat dari hipokotil juga menunjukkan hasil yang lebih baik pada kontrol, dibandingkan dengan perlakuan lainnya yang diberi penambahan hormon eksogen.

Pertumbuhan Pucuk di Subkultur I

Subkultur dilakukan untuk menunjang pertumbuhan eksplan. Sejalan dengan pendapat [10] yang menyatakan bahwa subkultur bertujuan untuk mempertahankan dan meningkatkan kondisi kultur.

Tabel 3. Rata-Rata Perbandingan Jumlah Pucuk Subkultur I

Perlakuan	Luar Angkasa	Kontrol
IB1	2	2
IB2	2	2
IB3	1	1
IB4	1	1
IB5	1	1
IB6	1	1

Saat subkultur I, jumlah pucuk yang terbentuk pada IB1 dan IB2 rata-rata sebanyak 2 pucuk, tetapi pada perlakuan IB3-IB6 jumlah pucuk yang terbentuk rata-rata 1. Pada tahap subkultur I, jumlah akar tidak dihitung, tetapi hanya dilihat saja apakah muncul akar atau tidak. Pucuk tomat dari biji sampel sudah mulai tumbuh akar pada perlakuan IB1 dan IB2. Sedangkan, perlakuan IB3-IB6 belum menunjukkan adanya akar. Hal ini diduga karena rasio total hormon endogen pada perlakuan IB3-IB6 menjadi berlebih sehingga menghambat pertumbuhan tanaman. Hormon dapat menghambat atau menginduksi pertumbuhan, tergantung konsentrasinya dalam suatu jaringan [8]. Didukung oleh pendapat [11] yang menyatakan hormon akan efektif bila dalam konsentrasi rendah.

Perbanyak dan Pertumbuhan Pucuk di Subkultur II dan III

Jumlah pucuk pada subkultur II dan III cenderung bertambah. Pada perlakuan yang tidak diberi zat pengatur tumbuh (IB1) cenderung tumbuh akar dan menghasilkan pucuk yang sedikit. Hal ini dikarenakan kandungan auksin endogen dalam eksplan tersebut sudah cukup sehingga dapat menginduksi akar. Sejalan dengan pendapat [6] menyatakan bahwa konsentrasi auksin yang lebih tinggi daripada sitokinin akan menginduksi akar. Sedangkan, perlakuan yang diberi penambahan sitokinin menghasilkan pucuk yang lebih banyak daripada IB1, karena sitokinin berfungsi menginduksi pucuk.

Tabel 4. Jumlah Pucuk Subkultur II dan III

Perlakuan	Subkultur II		Subkultur III	
	Kontrol	Luar angkasa	Kontrol	Luar angkasa
IB1(MS tanpa ZPT)	2,00 ± 0,00 abc	2,00 ± 0,00 abc	3,67 ± 0,33 de	3,33 ± 0,33 e
IB2(MS+0,2ppm IAA)	2,00 ± 0,00 abc	2,00 ± 0,00 abc	3,33 ± 0,33 de	2,67 ± 0,33 bcd
IB3(MS+2ppm BAP)	2,33 ± 0,33 abcd	2,33 ± 0,33 abcd	3,00 ± 0,57 cde	3,00 ± 0,00 cde
IB4(MS+0,2ppm IAA+2ppm BAP)	2,67 ± 0,33 abcd	2,33 ± 0,33 abcd	4,67 ± 0,33 f	3,67 ± 0,33 e
IB5(MS+4ppm BAP)	2,33 ± 0,33 abcd	1,67 ± 0,33 ab	3,00 ± 0,00 cde	2,33 ± 0,33 abcd
IB6(MS+0,2ppm IAA+4ppm BAP)	1,33 ± 0,33 a	2,00 ± 0,00 abc	2,33 ± 0,33 abcd	2,67 ± 0,33 bcd

Keterangan: Angka-angka yang diikuti dengan huruf yang sama menunjukkan bahwa hasil tidak berbeda nyata pada taraf uji 95%.

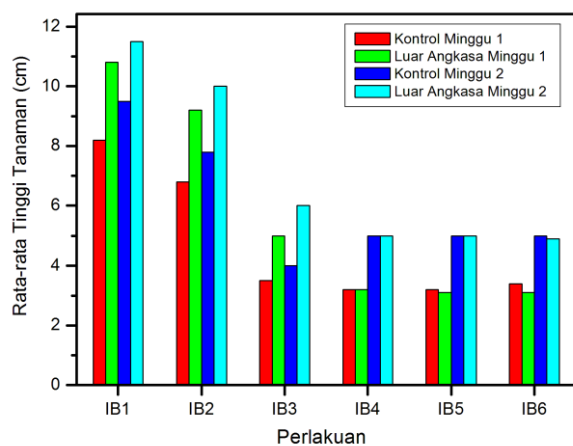
Berdasarkan hasil, terlihat berbeda signifikan (memiliki notasi yang berbeda) pada subkultur III perlakuan IB4 antara biji kontrol dan luar angkasa. Sehingga, Pada penelitian ini, medium yang optimum untuk menghasilkan pucuk adalah medium MS dengan penambahan IAA sebesar 0,2

ppm dan BAP sebesar 2 ppm, yaitu pada perlakuan IB4

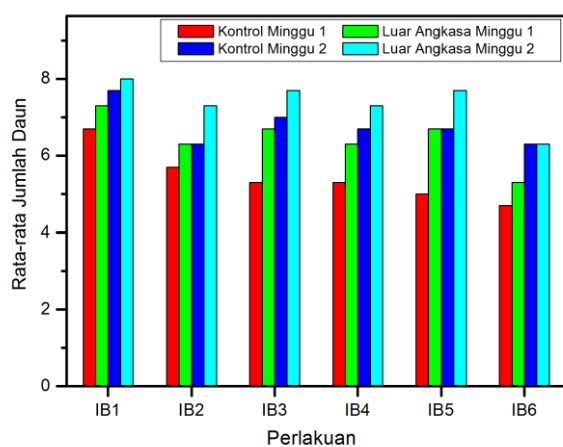
Perakaran

Medium perakaran umumnya hanya menggunakan penambahan auksin saja, karena

auksin berfungsi untuk menginduksi akar [12]. Hal ini juga sejalan dengan teori Skoog [6] bahwa konsentrasi auksin yang lebih tinggi akan menginduksi akar. Induksi perakaran dilakukan selama 2 minggu pada perlakuan IB3-IB6. Induksi perakaran dilakukan agar planlet dapat menyerap nutrisi, sehingga pertumbuhannya dapat optimal. Berdasarkan hasil penelitian, medium perakaran yang optimum adalah MS dengan penambahan IBA 1 ppm. Stabilitas dan efektivitas IBA lebih tinggi daripada IAA. Hal ini didukung oleh hasil penelitian Zimmerman dan Wilcoxon [13] pada *Vigna radiate*, yaitu dengan munculnya akar adventif setelah diberi IBA, sedangkan yang diberi IAA tidak terdapat akar adventifnya.



Gambar 1. Perbandingan rata-rata tinggi tanaman saat aklimatisasi pada IB1- IB6 selama 2 minggu.



Gambar 2. Perbandingan rata-rata jumlah daun saat aklimatisasi pada IB1-IB6 selama 2 minggu.

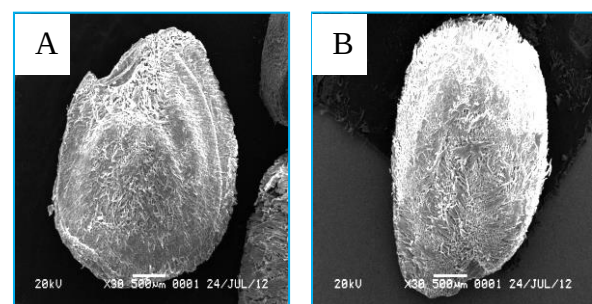
Aklimatisasi

Aklimatisasi dilakukan dengan tujuan agar tanaman hasil kultur jaringan siap beradaptasi dengan lingkungan baru (di luar kultur/*ex vitro*). Aklimatisasi dilakukan pada semua perlakuan *invitro* (IB1-IB6) selama 2 minggu, dengan memberikan sungkup plastik transparan. Jika dalam 2 minggu tanaman tersebut dapat bertahan hidup, maka tanaman tersebut dikatakan sudah lulus hidup dan siap dipindahkan ke lingkungan baru, yaitu pada media tanam tanah di lapangan [12]. Aklimatisasi dilakukan karena sistem perakaran dan pucuk tanaman hasil propagasi *invitro* memerlukan adaptasi terhadap kondisi lingkungan alami [14], terutama karena daun tanaman hasil kultur *invitro* memiliki kutikula yang belum berkembang baik, antara lain strukturnya tipis, lembut, fotosintesis belum terlalu aktif, sehingga transpirasi yang berlebihan menyebabkan sel-sel hilang keseimbangan dalam proses metabolisme [15].

Pada gambar 1 dan 2, terlihat bahwa Perlakuan IB1 lebih tinggi tanamannya dan lebih banyak pucuk karena diduga kandungan auksin dan sitokinin endogen sudah cukup, sehingga tanaman dapat tumbuh tanpa penambahan hormon eksogen. kelulushidup tanaman mencapai 98 %.

Pengamatan SEM

Hasil pengamatan SEM menunjukkan bahwa pada biji luar angkasa terdapat adanya permukaan berlubang atau berpori, yang diduga akibat pengaruh radiasi kosmik. Bagian berlubang pada biji luar angkasa seperti yang ditunjukkan anak panah (Gambar 3). Sementara permukaan biji kontrol tidak menunjukkan adanya pori.



Gambar 3. Permukaan biji tomat pada perbesaran 30x menggunakan SEM (A) Biji kontrol, (B) Biji luar dari angkasa.

Hal ini sesuai dengan penelitian Xie *et al.*, 2004, dalam [16] bahwa radiasi kosmik menyebabkan permukaan pada biji alfalfa berpori. Hasil penelitian [17] juga menyebutkan bahwa membran sel (PTFE) yang telah dibawa ke luar angkasa ternyata pori-pori nya menjadi berlubang setelah diamati dengan SEM. Hal ini dikarenakan efek ruang angkasa pada biji akan mengakibatkan perubahan morfologi.

■ Kesimpulan

1. Terdapat perbedaan secara fisik pada biji yang telah dibawa ke ruang angkasa jika dibandingkan dengan biji kontrol.
2. Protokol multiplikasi terbaik untuk tanaman dari biji kontrol dan biji yang telah dibawa ke ruang angkasa sama. Medium optimum untuk multiplikasi pucuk adalah MS dengan penambahan 0,2 ppm IAA dan 2 ppm BAP.
3. Medium perakaran yang terbaik adalah MS dengan penambahan 1 ppm IBA

■ Daftar Pustaka

- [1] Setijo, P. (2009): *Benih Tomat*, Edisi kelima, Kanisius, Yogyakarta.
- [2] Saldianto. (2009): *Pengaruh IAA dan BAP Terhadap Multiplikasi Tunas Kunyit (Curcuma domestica Val) Secara In-vitro*, Laporan akhir program alih jenjang D3-D4, Institut Teknologi Bandung.
- [3] Evans, D.E., Coleman, J.O.D., dan Kearns, A. (2003): *Plant Cell Culture*, BIOS Scientific Publisher, London and Newyork.
- [4] Sanatombi. dan Sharma, G.J. (2007): *Micropropagation of Capsicum annum, Bot.Hort.Agrobot.Cluj*, vol.35, Issue 1, Department of Life Sciences, Manipur University, Canchipur, Imphal, India.
- [5] Rostiana, O. dan Seswita, D. (2007): *Pengaruh IAA dan NAA Terhadap Induksi Perakaran Tunas Piretrum (Chrysanthemum cinerariifolium) Klon Prau 6 Secara In-vitro*, *Bul.Littro*, vol. **xviii** no. 1, 39-48.
- [6] George, E.F. dan Sherrington, P.D. (1984): *Plant Propagation by Tissue Culture*, Handbook and Directory of Commercial Laboratories, Exegenetics LTD Evesly Basingstoke Hants, England.
- [7] Lestari, G.E. (2008): *Kultur Jaringan*, Penerbit AkaDemiA, Bogor.
- [8] Moore, T. (1989): *Biochemistry and Physiology of Plant Hormones 2nd edition*, Springer- Verlag New York Inc.
- [9] Gubis, J., Lajhova, Z., Farago, J., dan Jurekova, Z. (2004): *Effect of Growth Regulators on Shoot Induction and Plant Regeneration in Tomato (Lycopersicon esculentum Mill.)*, *Short communication Biologia*, Bratislava, **59**(3), 405-408.
- [10] George, E.F., (2008): *Plant Tissue Culture Procedure Background* dalam George, E.F., Hall, A.M., dan Klerk., Eds, *Plant Propagation by Tissue Culture 3rd edition*, p. 7, Publisher by Springer, Netherlands.
- [11] Mineo, L. (1990): *Plant Tissue Culture Techniques in Tested Studies for Laboratory Teaching volume 11*. Ed. C. A. Goldman. Pages 160.
- [12] Wetherell, D.F. (1982): *Introduction to In-vitro Propagation*, Avery Publishing Group Inc. Wayne, New jersey.
- [13] Muller, J.L., Vertocnik, A., dan Town, C.D. (2005): *Analysis of Indole-3-Butyric Acid Induced Adventitious Root Formation on Arabidopsis Stem Segments*, *Journal of Experimental Botany*, volume **56**(418), 2095-2105.
- [14] Das, A. (2011): *Effect of Growth Regulators on Shoot Induction and Plant Regeneration in Tomato (Lycopersicon esculentum Mill.)*, Disertasi Bioteknologi-FMIPA, BRAC University, Bangladesh.
- [15] Barahima, A. (2011): *Prinsip Dasar Teknik Kultur Jaringan*, Cv. Alfabeta, Bandung.
- [16] Ren, W., Zhang, Y., Deng, B., Guo, H., Cheng, L., dan Liu, Y. (2010): *Effect Of Space Flight Factors On Alfalfa Seeds*, *African Journal of Biotechnology*, **9**(43), 7273-7279.
- [17] Oktaviani., Suliwarno, A., dan Puspitasari, T. (2011): *Pembuatan dan Karakterisasi Kopolimer e-PTFE-g-stirena dengan Metode Pencangkakan Prairadiasi*, *Jurnal Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi*, Volume **7**, nomor 1, Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi. Batan.