

MULTIPLIKASI TUNAS *IN VITRO* TIGA KLON AGAVE (*Agave sisalana* Perrine)

Tantri Dyah Ayu Anggraeni dan Rully Dyah Purwati

Balai Penelitian Tanaman Pemanis dan Serat, Malang

ABSTRAK

Agave (*Agave sisalana* Perrine) adalah tanaman penghasil serat dengan karakteristik serat kasar, kuat, dan tahan air berkadar garam tinggi, sehingga banyak dimanfaatkan dalam industri tali, tambang kapal laut, karung, kerajinan rakyat berupa keset, sapu, dan sikat. Pengembangan tanaman agave terkendala pada penyediaan bahan tanam. Umumnya agave diperbanyak secara vegetatif dengan anakan (*sucker/rhizome/stolon*) yang tumbuh di sekitar tanaman induk dan *bulbil* yang diproduksi dari tangkai bunga, karena perbanyakan secara generatif terbatas akibat jarangya tanaman ini membentuk biji. Metode kultur jaringan merupakan pilihan dalam menghasilkan bibit dalam jumlah banyak dengan waktu relatif cepat. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui komposisi media yang tepat untuk multiplikasi tunas *in vitro* dari tiga klon agave. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Balittas mulai bulan Februari sampai dengan Mei 2011. Sumber eksplan yang digunakan adalah tunas *in vitro* agave BLT 1, BLT 2, dan BLT 3 dari koleksi plasma nutfah secara *in vitro*. Penelitian disusun dalam rancangan acak lengkap yang disusun secara faktorial 2 faktor dengan 3 ulangan. Faktor I adalah komposisi media yang terdiri atas M1 (media *Murashige & Skoog* (MS) + *Benzyl amino purine* (BAP) 0,5 mg/l + *Pluronic* 5 mg/l); M2 (media MS + BAP 0,5 mg/l + *Adenine sulphate* (ADS) 50 mg/l); M3 (media MS + BAP 0,5 mg/l + *Thidiazuron* (TDZ) 0,4 mg/l), dan M4 (media MS + BAP 0,5 mg/l + *Gibberelic acid* (GA)₃ 0,5 mg/l) dan faktor II adalah genotipe yaitu BLT1, BLT2, dan BLT3. Parameter yang diamati adalah kecepatan pembentukan tunas, persentase eksplan bertunas, dan jumlah tunas pada 8 MST. Hasil penelitian menunjukkan eksplan yang ditanam pada media M3 (MS + BAP 0,5 mg/l + TDZ 0,4 mg/l) paling cepat membentuk tunas (19,67 hari), menghasilkan eksplan bertunas dan jumlah tunas/eksplan paling tinggi pada 8 MST (94,44 % dan 2,556 tunas). Persentase eksplan bertunas pada 8 MST tertinggi diperoleh dari genotipe BLT 1.

Kata kunci: Agave, tunas, multiplikasi, media, genotipe

IN VITRO SHOOT MULTIPLICATION OF THREE AGAVE (*Agave sisalana* Perrine) CLONES

ABSTRACT

Agave (*Agave sisalana* Perrine) is a fibre yielding plant with fibre characters coarse, strong, and resistant to saltwater. Therefore, it is widely used for cordage industrial, ropes, sacks, handicrafts like mattresses and brushes. The development of this plant is limited by its propagation. Agave is mainly asexual propagated with suckers or bulbils, because sexual reproduction is limited by seed production. *In vitro* culture technique is a practical way to produce a large amount of plant material in relatively short time. The study aimed to obtain a suitable medium composition for shoot multiplication of three agave clones i.e. BLT 1, BLT 2, BLT 3. The experiment has been conducted from February to May 2011 in The Tissue Culture Laboratory of Indonesian Tobacco and Fibre Crops Research Institute. Explant source derived from agave BLT 1, BLT 2, and BLT 3 *in vitro* shoot of IToFCRI germplasm collection. The experiment was arranged in factorial complete random design with two factors i.e medium composition and genotype with three replications. The composition of the medium were M1 (*Murashige & Skoog* (MS) + *Benzyl amino purine* (BAP) 0,5 mg/l + *Pluronic* 5 mg/l); M2 (MS + BAP 0.5 mg/l + *Adenine sulphate* (ADS) 50 mg/l); M3 (MS + BAP 0.5 mg/l + *Thidiazuron* (TDZ) 0.4 mg/l), and M4 (MS + BAP 0.5 mg/l + *Gibberelic acid* (GA)₃ 0.5 mg/l). The effect of the treatments was evaluated with measuring period for bud, percentage of sprouted explants, and number of shoots per explant after 8 weeks. This study showed that explant planted in medium M3 (MS + BAP 0.5 mg/l + TDZ 0.4 mg/l) has the least time to bud formation (19.67 days), produced the highest shoot explant (94.44 %), and the highest number of shoot/explant (2.556 shoots). Genotype BLT 1 gave the highest percentage of shoot/explant after 8 weeks.

Keywords: Agave, shoot, multiplication, medium, genotype

PENDAHULUAN

Agave (*Agave sisalana* Perrine) adalah tanaman penghasil serat alam. Serat agave memiliki karakteristik kasar, kuat, dan tahan terhadap air berkadar garam tinggi. Serat agave digunakan sebagai bahan baku dalam industri tali temali (*cordage*) seperti tambang kapal laut dan karung. Selain itu agave juga menghasilkan saponin sebagai bahan steroid dan detergen. Beberapa spesies lain agave yang juga dimanfaatkan sebagai bahan baku serat alam adalah *A. fourcroydes* Lem dan *A. cantala* Robx. (Binh *et al.* 1990). Spesies agave seperti *A. parrasana* dan *A. tequilana* dimanfaatkan sebagai tanaman hias dan bahan minuman. Di dalam negeri, serat agave banyak digunakan sebagai bahan pembuat tali untuk mengemas tembakau, industri tali kapal laut, dan industri kerajinan rakyat seperti keset, sapu, dan sikat (Santoso 2009). Menurut Debnath *et al.* (2010) *A. sisalana* juga merupakan tanaman obat-obatan penting yang memiliki banyak khasiat, terutama untuk menurunkan tekanan darah. Tanaman agave merupakan tanaman tahunan yang tahan ditanam pada kondisi lahan kering dan marginal sehingga dapat pula difungsikan sebagai tanaman penghijauan dan konservasi lahan.

Pengembangan tanaman agave terkendala pada penyediaan bahan tanam. Umumnya agave diperbanyak secara vegetatif dengan anakan (*sucker/rhizome/stolon*) yang tumbuh di sekitar tanaman induk dan *bulbil* yang diproduksi dari tangkai bunga, karena perbanyakannya secara generatif terbatas akibat jarangnyanya tanaman ini membentuk biji. Jumlah bahan tanam yang dihasilkan secara konvensional sangat terbatas, karena agave termasuk spesies *monocarpic*, yaitu spesies tanaman yang berbunga sekali dalam satu siklus hidupnya, kemudian mati, padahal umur tanaman agave cukup panjang berkisar antara 15–30 tahun. Keberadaan bunga juga terbatas akibat budi daya agave yang mengharuskan pemotongan tangkai bunga agar kualitas serat tidak menurun. Anakan yang diproduksi per tahun oleh satu tanaman induk juga jumlahnya relatif sedikit dan tidak dapat memenuhi kebutuhan bibit, yaitu sekitar 4.000 tanaman/ha (Binh *et al.* 1990). Tanaman yang diperbanyak secara klonal (vegetatif) terus menghasilkan tanaman yang seragam secara genetik sehingga keragaman genetiknya menjadi sempit dan

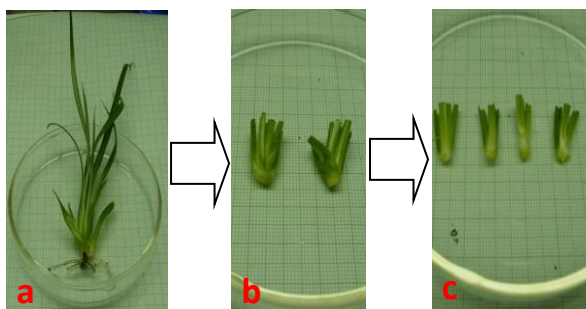
menyebabkan tanaman menjadi lebih rentan terhadap serangan patogen yang dapat menyerang secara endemik pada area pertanaman yang luas (Valenzuela-Sanchez *et al.* 2006).

Metode kultur jaringan merupakan pilihan dalam menghasilkan bibit dalam jumlah banyak dengan waktu relatif lebih cepat. Metode kultur jaringan melalui fase kalus dapat meningkatkan keragaman genetik tanaman. Keberhasilan teknik kultur jaringan ditentukan oleh komposisi media tumbuh dan sumber eksplan yang tepat untuk menginduksi tunas *in vitro*. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengetahui komposisi media yang paling efisien menghasilkan tunas. Binh *et al.* (1990) mengemukakan komposisi media MS dengan penambahan NAA, IBA, dan kinetin dapat menghasilkan tunas primordia dalam jumlah banyak pada eksplan stolon dari tiga spesies agave yang diuji. Sedangkan Das (1992) melaporkan keberhasilan induksi tunas *in vitro* langsung (*direct shoot*) pada *A. sisalana* dari sumber eksplan rizom pada media Schenk dan Hildebrandt (SH); Hazra *et al.* (2002) juga melaporkan keberhasilan teknik kultur jaringan agave melalui fase kalus menggunakan media MS + BA sedangkan Sanchez-Urbina *et al.* (2008) mengatakan bahwa induksi tunas maksimum didapatkan pada tunas yang ditanam pada media dengan komposisi BA + 2,4 D.

Dalam penelitian ini dicoba beberapa komposisi media yang berbeda untuk menginduksi tunas *in vitro* dari tiga klon *Agave sisalana*. Penelitian bertujuan untuk mengetahui komposisi media yang tepat untuk multiplikasi tunas *in vitro* agave dan respon genotipe dalam menghasilkan tunas *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Balittas mulai bulan Februari sampai dengan Mei 2011. Sumber eksplan yang digunakan adalah tunas *in vitro* agave klon BLT 1, BLT 2, dan BLT 3 dari koleksi plasma nutfah secara *in vitro* yang telah berumur 6 tahun. Tunas *in vitro* dipotong melintang dengan panjang rata-rata 2 cm, kemudian dibagi menjadi dua bagian secara membujur (Gambar 1). Masing-masing eksplan ditanam pada media kultur dengan komposisi sesuai perlakuan.



Gambar 1. Tahap persiapan: a. tunas *in vitro*, b. tunas setelah dipotong melintang sepanjang 2 cm, c. tunas yang telah dibagi 2 secara membujur.

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap yang disusun secara faktorial dengan dua faktor dengan tiga ulangan. Faktor I: Komposisi media yang terdiri atas: M1 (media MS + BAP 0,5 mg/l + Pluronic 5 mg/l); M2 (media MS + BAP 0,5 mg/l + ADS 50 mg/l); M3 (media MS + BAP 0,5 mg/l + TDZ 0,4 mg/l), dan M4 (media MS + BAP 0,5 mg/l + GA₃ 0,5 mg/l). Faktor II: genotipe yaitu BLT1, BLT2, dan BLT3. Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah kecepatan pembentukan tunas, persentase eksplan bertunas, dan jumlah tunas pada 8 MST (minggu setelah tanam). Untuk mengetahui beda nyata masing-masing faktor dan taraf perlakuan digunakan uji lanjut *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) dengan selang kepercayaan 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kecepatan pembentukan tunas dan jumlah tunas pada 8 MST hanya dipengaruhi faktor komposisi media. Sedangkan persentase eksplan bertunas pada 8 MST dipengaruhi oleh komposisi media dan genotipe. Interaksi antara komposisi media dan genotipe tidak berpengaruh pada semua parameter yang diuji (Tabel 1).

Terbentuknya tunas agave paling cepat terjadi pada eksplan yang ditanam pada media MS + BAP + TDZ (M3), yaitu 19,67 hari, berbeda nyata dengan yang ditanam pada komposisi media lainnya (Tabel 2). Hal ini kemungkinan disebabkan kemampuan TDZ sebagai golongan sitokinin cenderung dapat mematahkan dormansi apikal, sehingga merangsang pertumbuhan tunas lebih cepat. Asum-

si ini didukung pula oleh penelitian Caraballo *et al.* (2010) yang menyebutkan bahwa tunas yang ditanam pada media dengan penambahan TDZ mempercepat induksi tunas pada *A. fourcroydes* Lem dibanding media kontrol tanpa TDZ.

Tabel 1. Hasil sidik ragam pengaruh faktor-faktor yang diuji pada parameter kecepatan pembentukan tunas, persen eksplan bertunas dan jumlah tunas pada 8 MST

Sumber keragaman	Kecepatan pembentukan tunas	Persentase eksplan bertunas	Jumlah tunas
Komposisi media	**	*	**
Genotipe	tn	*	tn
Interaksi	tn	tn	tn

** sangat nyata pada $P < 0,01$

* nyata pada $P < 0,05$

tn = tidak berbeda nyata pada $P < 0,05$

Tabel 2. Pengaruh komposisi media pada parameter kecepatan pembentukan tunas, persen eksplan bertunas, dan jumlah tunas pada 8 MST

Komposisi media	Kecepatan pembentukan tunas (hari)	Persen eksplan bertunas (%)	Jumlah tunas/eksplan
M1	29,44 b	88,88 ab	1,667 b
M2	34,33 ab	77,77 bc	1,444 b
M3	19,67 c	94,44 a	2,556 a
M4	37,67 a	66,67 c	0,889 c
KK (%)	25,31	18,26	32,69

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada uji *Duncan* 5%.

M1 = MS + BAP 0,5 mg/l + Pluronic 5 mg/l; M2 = MS + BAP 0,5 mg/l + ADS 50 mg/l; M3 = MS + BAP 0,5 mg/l + TDZ 0,4 mg/l, dan M4 = MS + BAP 0,5 mg/l + GA₃ 0,5 mg/l.

MS = Murashige & Skoog; BAP = Benzyl amino purine; ADS = Adenine sulphate; TDZ = Thidiazuron; GA₃ = Gibberelic acid

Eksplan yang ditanam pada media M3 juga paling banyak membentuk tunas pada 8 MST, yaitu 94,44% dan berbeda nyata dengan komposisi media M4 dan M2, namun tidak berbeda nyata dengan media M1. Jumlah tunas/eksplan pada 8 MST tertinggi juga diperoleh dari eksplan yang ditanam pada media dengan kombinasi BAP dan TDZ dibandingkan kombinasi BAP dan Pluronic, ADS maupun GA₃ (Tabel 2). Sinergisme BAP dan TDZ juga menghasilkan induksi tunas maksimal pada kultur *in vitro* *Curcuma longa* (Prathantharurug *et al.* 2003); meningkatkan proliferasi tunas *in vitro* *Aframomum corrorima* (Tefera dan Wannakrairoj 2006); dan me-

macu tunas lebih banyak pada kultur *in vitro* daun encok *Plumbago zeylanica* L. (Syahid dan Kristina 2008). Huetteman dan Preece (1993) menyebutkan TDZ adalah golongan sitokinin non-purin yang menunjukkan efek yang lebih kuat dibanding sitokinin lain pada berbagai spesies tanaman dan efektif untuk proliferasi tunas aksilar dan organogenesis tunas adventif. Sinergisme antara BAP dengan zat pengatur tumbuh lain, yaitu Pluronic, ADS, dan GA₃ pada penelitian ini menghasilkan efek yang lebih rendah pada multiplikasi tunas dibanding sinergisme antara BAP dan TDZ.

Respon genotipe yang berbeda ditunjukkan oleh persentase eksplan bertunas dalam media induksi tunas yang digunakan (Tabel 1 dan 3).

Tabel 3. Pengaruh genotipe pada parameter kecepatan pembentukan tunas, persen eksplan bertunas, dan jumlah tunas pada 8 MST

Genotipe	Kecepatan pembentukan tunas (hari)	Persen eksplan bertunas (%)	Jumlah tunas
BLT1	27,67 a	88,88 a	1,833 a
BLT2	30,58 a	83,33 ab	1,583 a
BLT3	32,58 a	73,61 b	1,500 a
KK (%)	25,31	18,26	32,69

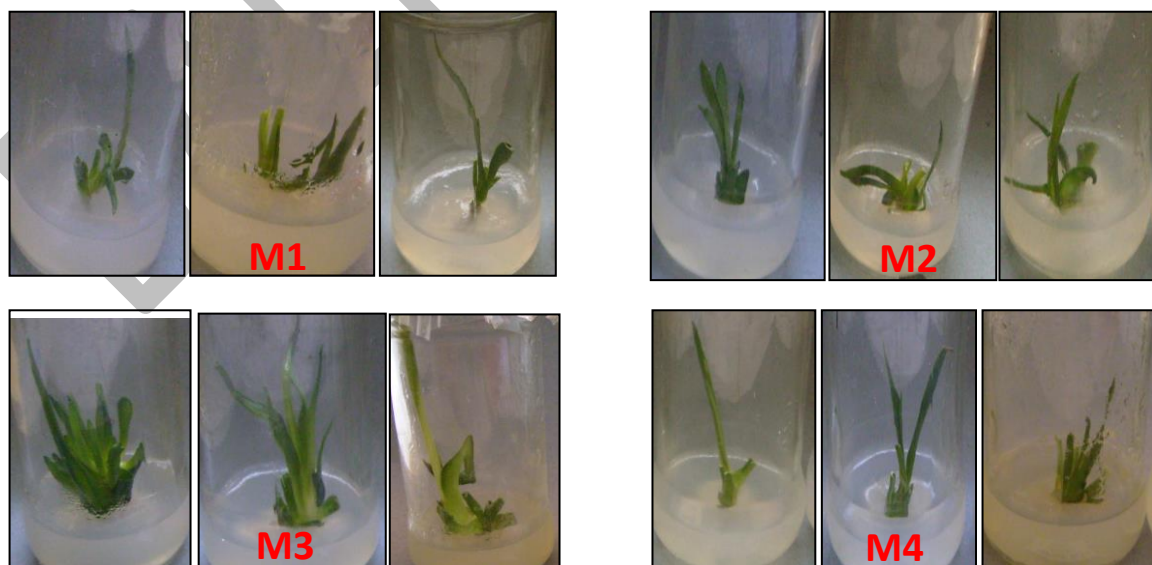
Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada uji *Duncan* 5%.

Genotipe BLT 1 menunjukkan respon yang lebih baik dibandingkan dengan BLT 2 dan BLT 3

untuk semua parameter pengamatan, tetapi pengaruhnya tidak berbeda nyata kecuali pada persentase eksplan bertunas, berbeda nyata dengan BLT 3. Hal ini mungkin disebabkan genotipe yang digunakan memiliki komposisi genetik yang hampir sama karena berasal dari spesies yang sama.

Perbanyakan agave secara vegetatif juga cenderung menghasilkan tanaman yang sama dengan induknya, sehingga tidak ada rekombinasi genetik yang dihasilkan pada keturunannya. Respon yang berbeda akibat pengaruh genetik mungkin diperoleh jika penelitian dilakukan dengan menggunakan spesies yang berbeda, seperti pada penelitian Ramirez-Malagon *et al.* (2008) yang menggunakan lima spesies agave berbeda yang memberikan respon berbeda-beda. Widoretno *et al.* (2003) juga melaporkan respon yang berbeda dari 14 kultivar dan galur unggul kedelai pada media induksi ES yang digunakan. Hasil penelitian Gandonou *et al.* (2005) menunjukkan adanya respon yang berbeda dari sembilan kultivar tebu yang diuji pada induksi kalus dan regenerasi tunas *in vitro*.

Secara morfologi tunas *in vitro* yang dihasilkan eksplan yang ditanam pada media M3 juga berbeda dibandingkan dengan M1, M2, dan M4 (Gambar 2). Tunas pada media M3 cenderung lebih kekar (*vigorous*). Penambahan TDZ terbukti efektif mengurangi jumlah tunas *hyperhydric* pada multiplikasi tunas *in vitro* *A. fourcroydes*. Tunas *hyper-*



Gambar 2. Tunas *in vitro* agave 8 MST pada berbagai komposisi media yang diuji

hidric adalah tunas yang terbentuk akibat konsentrasi sitokinin yang terlalu tinggi, sehingga menyebabkan tunas tidak dapat tumbuh dan berkembang normal (Caraballo *et al.* 2010).

Teknik mikropropagasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah dengan cara organogenesis langsung, yaitu tunas dihasilkan langsung tanpa melalui fase kalus karena tujuannya adalah untuk mendapatkan multiplikasi tunas *in vitro* sebagai bahan perbanyakan tanaman yang seragam. Tunas kebanyakan muncul dari bagian bawah tanaman dari daun pertama (Gambar 2). Hal ini mungkin disebabkan produksi tunas samping yang membentuk rumpun tunas dari bagian bawah tanaman (Caraballo *et al.* 2010). Keuntungan dari teknik ini adalah planlet yang dihasilkan diharapkan terhindar dari keragaman somaklonal, sehingga komposisi genetik planlet sama dengan induknya. Beberapa penelitian yang menggunakan teknik mikropropagasi pada spesies agave melalui fase kalus atau somatik embriogenesis bertujuan untuk memperoleh keragaman genetik sebagai upaya memperkaya keragaman dalam proses seleksi dan perakitan varietas baru (Hazra *et al.* 2002; Nikam *et al.* 2003; Valenzuela-Sanchez *et al.* 2006).

KESIMPULAN

Eksplan yang ditanam pada media M3 paling cepat membentuk tunas (19,67 hari), menghasilkan eksplan bertunas dan jumlah tunas/eksplan paling tinggi pada 8 MST (94,44% dan 2,556 tunas). Medium yang paling tepat untuk multiplikasi tunas *in vitro* *A. sisalana* adalah media dengan komposisi MS + BAP 0,5 mg/l + TDZ 0,4 mg/l. Persentase eksplan bertunas pada 8 MST tertinggi diperoleh dari genotipe BLT 1.

DAFTAR PUSTAKA

- Binh, L.T., L.T. Muou, H.T.K. Oanh, T.D. Thang & D.T. Phong. 1990. Rapid propagation of agave by *in vitro* tissue culture. *Plant Cell, Tissue, and Organ Culture* 23:67–70.
- Caraballo, M.G., G.G. Oramas, S.A. Garcia, E.A. Cruz, K.Q. Bravo, P.D.S. Caligari & R. Garcia-Gonzales. 2010. Management of auxin-cytokinin interactions to improve micropropagation protocol of henequen (*Agave fourcroydes* Lem.). *Chilean Journal of Agricultural Research* 70(4):545–551.
- Das, T. 1992. Micropropagation of *Agave sisalana*. *Plant Cell, Tissue, and Organ Culture* 31:253–255.
- Debnath, M., M. Pandey, R. Sharma, G.S. Thakur & P. Lal. 2010. Biotechnological intervention of *Agave sisalana*: A unique fiber yielding plant with medicinal property. Review. *Journal of Medicinal Plants Research* 4(3):177–187.
- Gandonou, Ch., T. Errabii, J. Abrini, M. Idaomar, F. Chibi & N.S. Senhaji. 2005. Effect of genotype on callus induction and plant regeneration from leaf explants of sugarcane (*Saccharum* sp.). *African Journal of Biotechnology* 4(11):1250–1255.
- Hazra, S.K., S. Das & A.K. Das. 2002. Sisal plant regeneration via organogenesis. *Plant Cell, Tissue, and Organ Culture* 70:235–240.
- Huetteman, C.A. & J.E. Preece. 1993. Thidiazuron: A potent cytokinin for woody plant tissue culture. *Plant Cell, Tissue, and Organ Culture* 33:105–119.
- Nikam, T.D., G.M. Bansude & K.C.A. Kumar. 2003. Somatic embryogenesis in sisal (*Agave sisalana* Perr. Ex. Engelm). *Plant Cell Reports* 22:188–194.
- Prathanturug, S., N. Soonthornchareonnon, W. Chuakul, Y. Phaidee & P. Saralamp. 2003. High-frequency shoot multiplication in *Curcuma longa* L. using thidiazuron. *Plant Cell Reports* 21:1054–1059.
- Ramirez-Malagon, R., A. Borodanenko, L. Perez-Morino, M.D. Salas-Araiza, H.G. Nunez-Palenius & N. Ochoa-Alejo. 2008. *In vitro* propagation of three agave species used for liquor distillation and three for landscape. *Plant Cell, Tissue, and Organ Culture* 94: 201–207.
- Sanchez-Urbina, A., L.M.C. Ventura-Canseco, A. Ayora-Talavera, M. Abud-Archila, M.A. Perez-Farrera, L. Dendooven & F.A.G. Miceli. 2008. Seed germination and *in vitro* propagation of *Agave griseolensis* an endemic endangered Mexican species. *Asian Journal of Plant Sciences* 7:752–756.
- Santoso, B. 2009. Peluang pengembangan agave sebagai sumber serat alam. *Perspektif* 8(2):84–95.
- Syahid, S.F. & N.N. Kristina. 2008. Multiplikasi tunas, aklimatisasi, dan analisis mutu simplisia daun encok (*Plumbago zeylanica* L.) asal kultur *in vitro* periode panjang. *Bul. Littro. XIX*(2):117–128.
- Tefera, W. & S. Wannakraioj. 2006. Synergistic effects of some plant growth regulators on *in vitro* shoot proliferation of korarima (*Aframomum corrorima* (Braun) Jansen). *African Journal of Biotechnology* 5(10):1894–1901.
- Valenzuela-Sanchez, K.K., R.E. Juarez-Hernandez, A. Cruz-Hernandez, V. Olalde-Portugal, M.E. Valverde & O. Paredez-Lopez. 2006. Plant regeneration of agave tequilana by indirect organogenesis. *In Vitro Cellular & Developmental Biology Plant*. 42(4):336–340.

Widoretno, W., E.L. Arumningtyas & Sudarsono. 2003.
Metode induksi pembentukan embrio somatik dari
kotiledon dan regenerasi planlet kedelai secara *in*
vitro. Hayati, Maret:19–24.

DISKUSI

- Tidak ada pertanyaan.

BALITTA S.doc