



## Teknologi Somatik Embriogenesis: TEROBOSAN PERBANYAKAN MASSAL BATANG BAWAH JERUK

Sektor perbenihan merupakan salah satu pendukung utama dalam program pembangunan pertanian. Pemerintah telah menetapkan tujuan pembangunan dan pengembangan agribisnis jeruk di Indonesia untuk mencukupi kebutuhan konsumsi dalam negeri, pemenuhan bahan baku industri, substitusi impor, dan mengisi peluang pasar ekspor (Supriyanto *et al.* 2007). Lebih lanjut dikatakan, bahwa pembangunan agribisnis jeruk diawali pada pembibitan, artinya agribisnis jeruk yang berkelanjutan dan kompetitif menuntut dukungan industri benih yang tangguh. Hingga tahun 2010 dibutuhkan sekitar 15 juta bibit jeruk dari beberapa varietas jeruk (Supriyanto *et al.* 2007). Kebutuhan tersebut menuntut ketersediaan semai batang bawah bermutu dalam jumlah banyak untuk kemudian diokulasi dengan varietas komersial.

Penyediaan bibit batang bawah jeruk hingga saat ini masih dilakukan melalui perbanyakan biji

semai. Metode ini memiliki beberapa kelemahan, di antaranya adalah masih ditemui adanya keragaman bibit karena sifatnya yang poliembrioni, dengan demikian cukup sulit bagi penangkar untuk membedakan antara bibit zigotik dengan nuselar, sehingga kekhawatiran bibit tidak *true to type* selalu ada. Keterbatasan jumlah bibit yang dapat dihasilkan dalam satu kali semaian juga menjadi kendala karena sangat bergantung pada suplai biji. Kendala lain yang hingga saat ini selalu ditemui jika dilakukan perbanyakan melalui biji karena produsen tidak dapat memberikan jaminan terhadap ketersediaan bibit yang bebas penyakit.

Perkembangan protokol kultur jaringan dalam perbanyakan sel dan jaringan vegetatif telah sampai kepada level yang memungkinkan untuk melakukan industrialisasi perbenihan dan penyediaan bahan dasar industri. Selain mampu memperbanyak tanaman yang sama dengan

induknya (*true to type*), menghasilkan tanaman yang bebas patogen sistemik, dan mengatasi permasalahan perbanyakan tanaman yang tidak dapat diperbanyak secara konvensional. Teknologi ini kemudian dikenal dengan istilah teknologi somatik embriogenesis atau disingkat teknologi SE.

Pada tanaman jeruk, SE dapat berkembang dari berbagai eksplan. Penggunaan eksplan tangkai putik dan putik telah terbukti efektif untuk membersihkan berbagai penyakit seperti psorosis, tristeza, *infectious variegation*, *concave gum*, *impietratura*, *cristacortis*, *exocortis*, dan *cachexia* (De Pasquale *et al.* 1994, D'Onghia *et al.* 2001). Selain dari bagian tersebut, embrio juga dapat berkembang dari jaringan nuselar induknya pada ovul yang mengelilingi/menyelimuti kantung embrio seksual dan mempunyai materi genetik yang sama dengan tanaman induknya. Jaringan nuselus juga dapat ditemukan pada biji yang diperoleh dari buah yang masih muda.

Penelitian Navarro dan Juarez (1977) dan D'Onghia *et al.* (2001) membuktikan bahwa embrio-embrio yang dihasilkan melalui prosedur SE dari jaringan nuselus, stigma, maupun tangkai putik secara *in vitro* dapat digunakan sebagai bahan eksplan pada perbanyakan jeruk bebas virus serta kalus embrionik yang dihasilkan sangat dibutuhkan dalam program pemuliaan (Ollitroult *et al.* 1994). Selain itu prosedur SE juga akan menghasilkan tanaman yang identik dengan induknya (De Pasquale *et al.* 1994), *true to type*, karena menggunakan jaringan somatik yang tidak bersifat ovular. Keuntungan lain yang diperoleh melalui prosedur SE adalah planlet yang dihasilkan dapat ditransfer secara langsung ke lingkungan alami setelah melalui fase aklimatisasi atau digunakan sebagai bahan eksplan untuk perbanyakan massal.

### **Aplikasi Bioreaktor untuk Produksi Massal Benih**

Teknologi kultur jaringan yang umum digunakan adalah menggunakan media yang mengandung agar sebagai pemat. Teknologi ini memerlukan botol kecil/*petridish* dan tenaga pekerja yang banyak. Sistem ini memerlukan

beberapa kali proses subkultur, energi, dan tenaga yang lebih banyak, dan ruang kultur yang luas, sehingga menyebabkan rendahnya efisiensi perbanyakan dan ongkos produksi yang besar.

Sistem baru dalam perbanyakan skala besar dengan protokol sederhana menggunakan peralatan yang terbatas dan ongkos operasional yang rendah. Beberapa usaha untuk mengembangkan protokol perbanyakan massal menggunakan teknologi produksi yang sederhana telah dilakukan, seperti teknologi robotik, kultur fotoautotropik, dan teknologi bioreaktor (Takayama 1991). Akhir-akhir ini, teknologi bioreaktor tampaknya lebih menjanjikan karena terbukti mengurangi tenaga kerja dan ongkos produksi yang rendah. Teknologi ini mampu memfasilitasi komersialisasi dalam perbanyakan tanaman.

Istilah bioreaktor digunakan untuk menggambarkan sebuah tempat untuk melakukan reaksi-reaksi biologi atau sebagai wadah kultur sel secara aerobik (Coombs 1986). Metode ini dalam waktu yang lama telah digunakan oleh industri mikrobial dan metabolit tanaman. Pertama kali usaha mengalihkan fungsi alami tersebut kepada perbanyakan tanaman dilaporkan oleh Takayama pada 1981 yang dilakukan pada perbanyakan *Begonia*. Beberapa tipe bioreaktor telah berkembang, sehingga klasifikasi bioreaktor digolongkan berdasarkan metode agitasi dan konstruksi. Tipe yang paling banyak digunakan untuk perbanyakan tanaman adalah *unstirred bubble bioreactors*, *bubble column bioreactors*, dan *airlift bioreactors* (Takayama dan Akita 2006). Tipe bioreaktor modern saat ini memiliki lubang hanya untuk inokulasi eksplan, sirkulasi udara, dan media aerasi. Keuntungannya adalah pada efisiensi inokulasi dan *handling*. Perbanyakan hanya ditentukan oleh ukuran bioreaktor dan jumlah yang digunakan.

Dalam kultur bioreaktor, eksplan dipelihara dalam kultur cair atau hanya bersentuhan dengan air. Karakteristik pertumbuhan pada media padat dan cair cukup berbeda. Oleh karena itu proses yang bertahap diperlukan sebelum eksplan dikembangkan dalam kultur bioreaktor (Takayama dan Akita 2006). Untuk keperluan perbanyakan kultur cair memiliki berbagai keuntungan, yaitu



automasi dan biaya murah. Sistem kultur cair memberikan kondisi lingkungan yang lebih beragam, kemudahan subkultur sehingga waktu dapat direduksi.

### Tahapan Teknologi SE untuk Perbanyak Batang Bawah Jeruk Massal

#### 1. Penyediaan eksplan

Eksplan yang digunakan untuk produksi batang bawah jeruk massal adalah nuselus yang diambil dari buah jeruk muda (12-14 minggu setelah bunga mekar) (Gambar 1), putik, dan kepala putik bunga yang belum mekar.



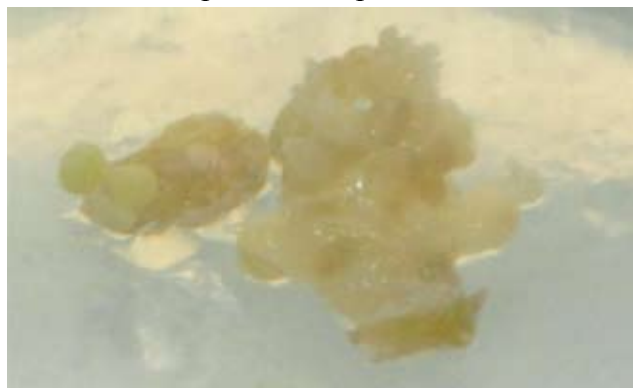
**Gambar 1.** Buah jeruk muda

#### 2. Sterilisasi eksplan

Sterilisasi eksplan dimulai dengan mencuci eksplan dengan air mengalir kemudian direndam dalam fungisida selama satu jam, direndam dalam sodium hipoklorit 10 dan 5% berturut-turut selama 5 dan 10 menit. Selanjutnya eksplan dibilas dengan akuades steril tiga kali.

#### 3. Penanaman eksplan

#### 4. Subkultur pada media padat



**Gambar 2.** Kalus yang tumbuh dari eksplan nuselus



**Gambar 3.** Kalus yang dikulturkan pada media cair dalam erlenmeyer

Kalus yang tumbuh dari eksplan nuselus (Gambar 2) maupun putik dan kepala putik, disubkultur pada media padat setiap empat minggu. Setelah kalus yang terbentuk cukup banyak, kalus dimasukkan pada media cair dalam erlenmeyer (Gambar 3).

#### 5. Subkultur pada media cair

Subkultur pada media cair dilakukan setiap 2-4 minggu. Berat kalus diukur setiap subkultur. Apabila berat kalus telah *stasioner*, kalus dimasukkan dalam bioreaktor untuk diinduksi menjadi embrio (Gambar 4 dan 5).



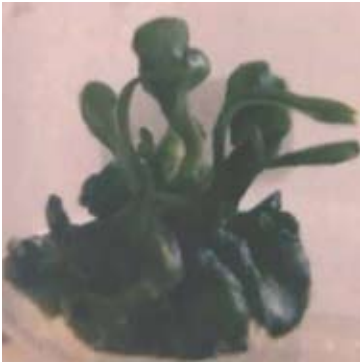
**Gambar 4.** Kalus yang dikulturkan pada media cair dalam bioreaktor



**Gambar 5.** Embrio yang terbentuk dalam bioreaktor

## 6. Pemilihan embrio

Embrio yang dihasilkan dari bioreaktor perlu dipilih untuk memisahkan embrio normal (Gambar 6) dan embrio tidak normal (Gambar 7).



Gambar 6. Embrio tidak normal



Gambar 7. Embrio normal

7. Induksi embrio menjadi planlet
8. Aklimatisasi

## PUSTAKA

1. Coombs, J. 1986. *MacMillan Dictionary of Biotechnology*. Macmillan Press, London; pp. 1-330.
2. De Pasquale, F., F. Carimi, and F.G. Crescimanno. 1994. Somatic Embryogenesis from Styles of Different Cultivars of *Citrus limon* (L.) Burm. *Aust. J. Bot.* 42:587-594.
3. D'Onghia, A.M., F. Carimi, F. De Pasquale, K. Djelouah, and G.P. Martelli. 2001. Elimination of Citrus Psorosis Virus by Somatic Embryogenesis From Stigma and Style Cultures. *Plant Pathol.* 50:266-269.
4. Navarro, L. and Juarez. 1977. Elimination of Citrus Pathogens in Propagative Budwood II. In vitro Propagation. *Proceeding Int. Soc. Citriculture.* 3:973-987.
5. Ollitrault, P. D. Dambier, C. Cabasson, V. Allent, and F. Engelmann. 1994. Optimized Management of Citrus Embryogenic Calli for Breeding Programmes. *Fruits.* 49(5-6):394-397.
6. Supriyanto, A., A. Agustian, A. Triwiratno, dan M. Winarno. 2007. *Prospek dan Arah Pengembangan Agribisnis Jeruk Edisi 2*. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. 64 Hal.
7. Takayama, S. 1991. Mass Propagation of Plants Through Shake and Bioreactor Culture Techniques. In: Bajaj, Y.P.S. (Ed.) *Biotechnology in Agriculture and Forestry*. 17:495-515. Springer-Verlag, Berlin.
8. \_\_\_\_\_, and M. Akita. 2006. Bioengineering Aspects of Bioreactor Application in Plant Propagation. In S. Dutta Gupta and Y. Ibaraki (Eds.), *Plant Tissue Culture Engineering*, 83-100 pp.

**Nirmala F.D, dan F. Yulianti**

Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika  
Tlekung