

Eksplorasi Metode Sterilisasi dan Macam Media Untuk Perbanyak Durian (*Durio zibethinus*, L.) Secara *In Vitro*

[Exploration of Sterilization Method and Type of Media For *In vitro* Propagation of Durian (*Durio zibethinus*, L.)]

Lili Sugiyarto* dan Paramita Cahyaningrum Kuswandi**

*Jurdik Biologi, FMIPA UNY/ Telp. 081331946350 dan email: liloels@gmail.com

**Jurdik Biologi, FMIPA UNY / Telp. 0274-880929 dan email: paramita_ugm@yahoo.com

Abstrak

Durian (*Durio zibethinus*, L.) memiliki nilai ekonomis tinggi baik sebagai salah satu komoditas hortikultura yaitu buah untuk konsumsi di pasar lokal maupun untuk ekspor. Salah satu hambatan adalah persediaan bibit yang tidak mencukupi dan metode perbanyakan yang merusak pohon induk dengan karakter unggul. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh metode sterilisasi yang tepat dan media untuk perbanyakan durian secara *in vitro*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan dan Kebun Percobaan FMIPA, UNY. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah induksi menggunakan sitokinin BAP (benzyl amino purin) dalam media MS. Eksplan diperoleh dari bibit durian yang sudah didekambahkan di polibag dengan media tanah dan kompos. Sterilisasi untuk penanaman dengan teknik kultur jaringan menggunakan detergen, *clorox* 20% dan 10%, alkohol 70%, dan aquades steril untuk nodia, sedangkan sterilisasi eksplan daun dengan *clorox* 10% dan 5%. Media yang digunakan adalah media MS (*Murashige* dan *Skoog*) ditambah dengan BAP (konsentrasi 2 dan 4 ppm), serta 2,4-D (0,4, 1,0, dan 1,5 ppm). Hasil penelitian menunjukkan penambahan BAP dalam media MS mampu memicu pertumbuhan tunas pada eksplan nodia durian pada konsentrasi 2 dan 4 ppm. Penambahan 2,4-D mampu menginduksi kalus pada daun durian. Pada konsentrasi 1 ppm kalus yang dihasilkan berwarna putih, berair dengan daun yang tidak terlalu menggulung sedangkan konsentrasi 0,4 dan 1,5 ppm menghasilkan kalus hijau dengan daun yang menggulung. Perlu perlakuan media yang lebih bervariasi baik pada eksplan nodia maupun daun untuk menghasilkan planlet melalui kalus atau pembentukan tunas secara langsung.

Kata kunci: durian, sterilisasi, BAP, 2,4-D, tunas, kalus

Abstract

One of the problems that can occur in the development of durian (*Durio zibethinus*, L.) is the availability of seedlings and the method of propagation can cause over-exploitation of the mother plant. The aim of this research was to obtain the method of sterilization and the right media for *in vitro* propagation of durian. The research was carried out in the Tissue Culture Laboratory and Experimental Garden Faculty of Mathematics and Science, Yogyakarta State University. The method used in this research was induction using the cytokinin BAP (benzylamino purine) in MS media. The explants were obtained from durian seedlings that were grown in polybags with soil and compost media. Sterilization for the tissue culture technique was done using detergent, alcohol 70%, and *clorox* (20% and 10%), and also sterile aquadest for nodia, while leaf exsplant sterilization was done using *clorox* 10% and 5%. The media used were MS (*Murashige and Skoog*) with BAP (2 dan 4 ppm) for the nodia and also with 2,4-D (0.4, 1.0, dan 1.5 ppm) for the leaf explants. The result showed that the BAP in the MS media was able to induce the growth of shoots from the nodia at concentrations of 2 and 4 ppm. The addition of 2,4-D was able to induce the growth of callus on the leaf explants. Using 1 ppm 2,4-D, the callus was white and transparent and the leaves did not curl so much as in the treatments with 0.4 and 1.5 ppm 2,4-D which caused the leaves to curl. More variation in the treatments or media both for the

nodia and leaves explants can be further investigated to produce plantlets via callus induction or direct organogenesis.

Key words: durian, sterilization, BAP, 2,4-D, shoot, callus

PENDAHULUAN

Durian merupakan salah satu buah yang sangat digemari masyarakat Indonesia sehingga mempunyai nilai ekonomis yang cukup tinggi. Durian sebagai salah satu komoditas hortikultura menjadi salah satu sasaran peningkatan produksi dan kualitas karena peran komoditas hortikultura dalam perekonomian nasional. Salah satu hambatan dalam budidaya tanaman durian adalah penyediaan bibit yang unggul. Saat ini, masih dilakukan penyediaan bibit dari pohon induk secara konvensional. Teknik kultur jaringan merupakan salah satu teknik yang dapat digunakan dalam perbanyakan tanaman durian. Kelebihan kultur jaringan antara lain siklus perbanyakan tanaman menjadi lebih cepat, memungkinkan perbanyakan vegetatif bagi tanaman yang sulit atau tidak mungkin diperbanyak secara vegetatif, dan bibit yang dihasilkan termasuk bibit yang sehat [4]. Penelitian ini bertujuan untuk menghasilkan metode sterilisasi dan media yang tepat untuk perbanyakan tanaman durian dengan kultur jaringan sehingga dapat dimanfaatkan untuk memperoleh bibit yang seragam dalam jumlah banyak.

Sebagai bagian dari kawasan Indo-Malaya, Indonesia merupakan salah satu dari delapan pusat keanekaragaman genetik tanaman di dunia khususnya untuk buah-buahan tropis seperti durian, mangga dan rambutan. Di Indonesia terdapat 20 macam jenis tanaman dari genus *Durio* dan Kalimantan merupakan pusat dari berbagai jenis *Durio* [10]). Menurut *Durian Research Centre* di Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya [2], durian unggul lokal Nusantara (d'kaltara) yang sudah dirilis oleh pemerintah, yaitu oleh Departemen Pertanian sampai dengan Tahun 2008 adalah sebanyak 67 varietas. Pengembangan d'kaltara harus dimulai dari perbanyakan pohon induk yang asli (*true to type*). Meskipun varietas lokal yang ada

sangat beragam, impor durian masih terjadi dengan angka yang cukup tinggi yaitu 21.827 ton pada Tahun 2007. Perbanyakan tanaman durian bisa dilakukan secara generatif maupun vegetatif. Secara generatif biji dipilih untuk bibit dengan syarat asli dari induknya, segar dan sudah cukup umur, tidak kisut, tidak terserang hama dan penyakit, sedangkan secara vegetatif dapat dilakukan dengan okulasi, penyusuan (model tusuk atau sayatan), dan cangkok [3].

Teknik mikropropagasi atau *in vitro* sering digunakan untuk menghasilkan tumbuhan yang *true-to-type* atau disebut klon (*clone*) atau sama dengan tumbuhan asalnya [7]. Kultur jaringan durian masih jarang dilakukan. Dari beberapa publikasi, hanya sedikit yang melakukan mikropropagasi menggunakan bagian vegetatif seperti tunas untuk perbanyakan durian dengan kultur jaringan. Hal tersebut disebabkan oleh sulitnya melakukan mikropropagasi tanaman berkayu [5]. Pada penelitian yang dilakukan oleh [6], eksplan kotiledon durian yang ditanam pada media dengan 0,1-0,5 ppm 2,4-D dan 0,5-2,0 ppm BAP menghasilkan pertumbuhan kalus, sedangkan [7] menggunakan 1mg/liter BAP untuk menginduksi tunas lateral durian secara *in vitro*

METODE PENELITIAN

Penelitian telah dilakukan di kebun percobaan dan laboratorium kultur jaringan, Fakultas MIPA, Universitas Negeri Yogyakarta. Bahan yang digunakan adalah biji durian varietas lokal. Perkecambahan biji dilakukan di kebun percobaan dengan menanam biji di polibag berisi media tanah dan kompos.. Untuk perkecambahan biji diperlukan polibag ukuran sedang, media tanam (kompos dan tanah) serta peralatan bercocok tanam. Setelah tunas mulai muncul, nodia dan daun dipindah ke media MS (Murashige dan Skoog) yang mengandung sitokinin BAP. Eksplan diambil

dari bibit durian berumur 3 minggu. Untuk sterilisasi digunakan bahan-bahan berupa detergen, aquades steril, alkohol 70%, larutan *clorox* (5%,10%,20%) dan tissue. Aluminium foil dan kertas payung juga digunakan dalam sterilisasi alat-alat. Media yang digunakan adalah MS + 2 ppm BAP dan MS + 4 ppm BAP untuk induksi tunas dari nodia, sedangkan untuk induksi kalus pada daun digunakan media MS dengan tambahan 2,4-D (0,4 ppm, 1ppm, dan 1,5ppm). Dalam perlakuan *in vitro*, dibutuhkan alat-alat berupa botol-botol media dan tutup tahan panas atau *aluminium foil*. Selain itu juga akan digunakan pinset, lampu Bunsen, *scalpel*, *petridish*, beaker, *magnetic stirrer*, autoklaf, timbangan digital, label, dan almari *Laminair air flow* (LAF).

Metode sterilisasi eksplan nodia durian berurutan : detergen (10 menit), *clorox* 20% (5 menit), *clorox* 10% (5 menit), alkohol 70% (2 menit), setiap berganti larutan dibilas dengan aquades steril. Untuk metode sterilisasi eksplan daun durian berurutan : detergen (10 menit), *clorox* 10% (3 menit), *clorox* 5% (3 menit) dan alkohol 70% (2 menit) dan dibilas dengan aquades steril seperti pada nodia. Setelah tahap sterilisasi, eksplan nodia dan daun ditanam pada media MS + ZPT yang sudah disiapkan. Pengamatan dilakukan seminggu sekali selama 8 minggu.

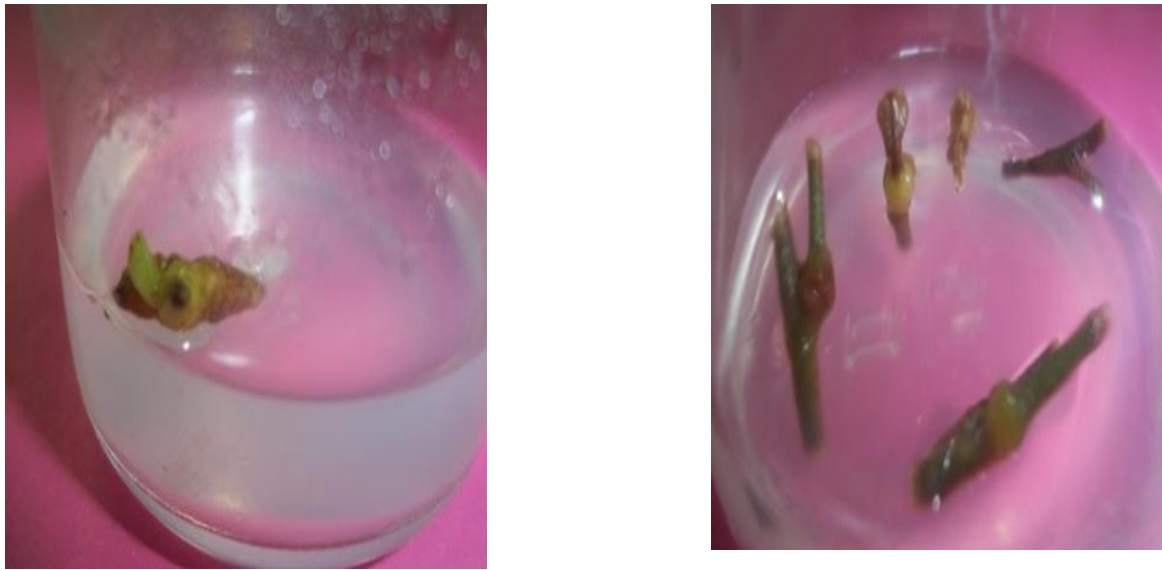
HASIL DAN DISKUSI

Perkecambahan durian dilakukan di media tanah karena perkecambahan secara *in vitro* sulit dilakukan. Dengan beberapa metode sterilisasi pada biji, masih terjadi kontaminasi saat ditanam di media *in vitro*. Oleh karena itu upaya untuk mendapatkan sumber eksplan yang sudah steril tidak bisa dilakukan. Dari beberapa metode sterilisasi yang dicoba, hasil paling baik didapatkan dengan metode sterilisasi detergen, *clorox* 20% dan 10% serta alkohol 70% untuk eksplan nodia, dengan waktu perendaman 5 menit. Untuk daun, sterilisasi dengan *clorox* 10% dan 5% serta alkohol 70% dengan lama perendaman di masing-masing larutan selama 3 menit. Penambahan BAP di dalam media MS mampu menginduksi tunas pada nodia durian dengan konsentrasi BAP 2 dan

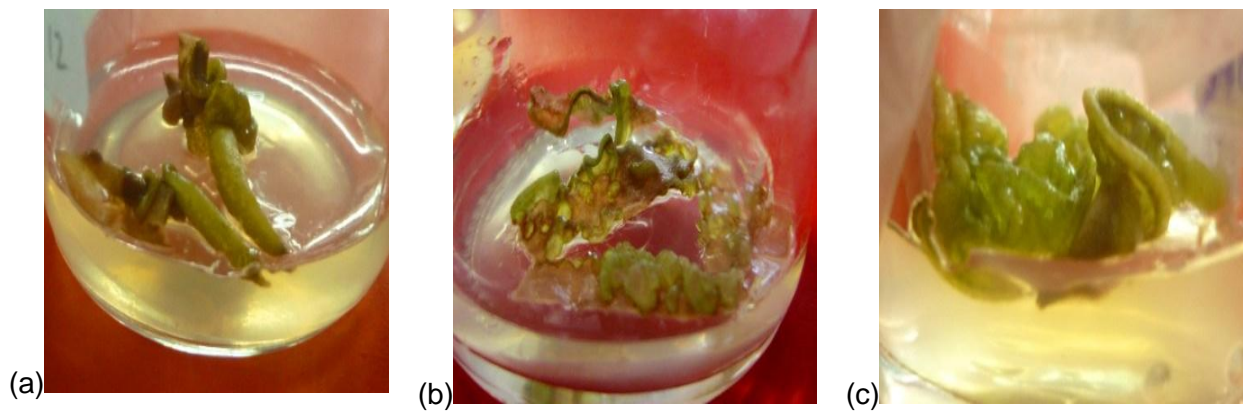
4 ppm. Pada konsentrasi 2ppm, BAP menginduksi pembentukan tunas saja pada nodia sedangkan konsentrasi 4 ppm menginduksi pembentukan nodia dan kalus. Hal tersebut dapat disebabkan oleh sitokinin yang sudah ada di dalam eksplan sejak diambil dari bibit hasil perkecambahan. Asal eksplan, khususnya genotipe dan posisi eksplan pada tanaman induk akan menentukan kadar hormon endogen di dalam eksplan [9]. Tunas yang terbentuk pada media dengan 2 ppm BAP membutuhkan waktu yang lebih lama untuk tumbuh, sedangkan dengan 4 ppm BAP tunas lebih cepat muncul tetapi dengan pertumbuhan kalus pada bagian nodia. Kalus yang tumbuh berupa kalus yang padat dengan permukaan luar yang halus dan berwarna kuning (Gambar 1).

Media MS yang mengandung auksin 2,4-D mampu menginduksi pertumbuhan kalus pada eksplan daun durian. Konsentrasi 0,4 ppm 2,4-D hanya mampu membuat daun menggulung dan tampak lekukan-lekukan seperti kalus berukuran besar. Auksin 2,4-D dengan konsentrasi 1 ppm menghasilkan kalus berwarna putih, padat dan berair, sedangkan konsentrasi 1,5 ppm menghasilkan kalus berukuran yang lebih besar dan lebih cepat tetapi berwarna hijau (Gambar 2). Perlakuan 1 dan 1,5 ppm 2,4-D tidak menyebabkan daun menggulung seperti dengan perlakuan 0,4 ppm sehingga penyerapan nutrisi oleh permukaan daun yang masih menempel pada media menjadi lebih efektif.

Hasil yang diperoleh menunjukkan pengaruh 2,4-D sebagai auksin yang menyebabkan elongasi sel, pembengkakan jaringan, dan pembentukan kalus [9]. Pembentukan akar adventif tidak tampak pada penelitian ini meskipun auksin mampu memicu pertumbuhan akar adventif. Potensi terjadinya embriogenesis tampak pada perlakuan dengan konsentrasi 1 ppm 2,4-D. Tipe kalus yang terbentuk menyerupai kalus hasil induksi auksin pada eksplan internodia tanaman pohon dalam genus *Populus* [10]. Kalus yang terbentuk berbentuk globular dan padat/tidak remah. Tipe kalus tersebut mempunyai potensi untuk diinduksi membentuk tunas.



Gambar 1. Pertumbuhan eksplan nodia durian secara *in vitro* dengan penggunaan media MS+2 ppm BAP pada 8 minggu setelah tanam (kiri) dan MS+4 ppm BAP (kanan) pada 4 minggu setelah tanam.



Gambar 2. Perkembangan eksplan daun durian 4 minggu setelah tanam. Perlakuan pada media MS dengan tambahan (a) 0,4ppm 2,4-D, (b) 1,0ppm 2,4-D, dan (c) 1,5 ppm 2,4-D.

SIMPULAN

Penelitian menunjukkan bahwa BAP dengan konsentrasi 2 dan 4 ppm pada media MS mampu menginduksi tunas dari nodia durian secara *in vitro*. Konsentrasi 4 ppm juga menginduksi kalus selain tunas. Penambahan auksin 2,4-D mampu menginduksi kalus pada eksplan daun durian yang berasal dari bibit umur 1 bulan, pada konsentrasi 1 dan 1,5 ppm. Konsentrasi 0,4 ppm 2,4-D menyebabkan eksplan daun menggulung tapi tidak terbentuk kalus. Perlu dilakukan eksplorasi dengan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang lebih bervariasi dan dengan kombinasi tertentu (misalnya auksin dan sitokinin dalam satu media).

UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada FMIPA UNY yang telah membiayai penelitian ini melalui Anggaran DIPA BLU Universitas Negeri Yogyakarta Tahun 2012.

PUSTAKA

- Part 1. 2nd edition. Exegetics Limited. London.1993. p150.
- [5] Giri, C.C., B.Shyamkumar, dan C. Anjaneyulu. Progress in Tissue Culture, Genetic Transformation and Applications of Biotechnology To Trees : An Overview. *Trees* .18 .(2004). 115-135
- [6] Karsinah, R.Triatminingsih, dan Sunyoto. 1995. Kultur Hipokotil, Kotiledon, dan Cincin Kotil Pada Tanaman Durian Secara *In Vitro*. *Penelitian Hortikultura*. Vol 7(2). (1995). 1-10.
- [7] Namhomchan, S. *In Vitro Culture of Durian*. Thesis. Kasetsart University. Bangkok. 1999.
- [8] Pierik, R.M.L. *In Vitro Culture of Higher Plants*. Martinus Nijhoff Publishers. Dordrecht. The Netherlands. 1987.p71.
- [9] Uji, T. Review : Keanekaragaman Jenis Buah-Buahan Asli Indonesia dan Potensinya. *Biodiversitas*. Vol 8 (2). (2007).157-167
- [1] Agrawal, V., dan S.C.Gupta. Rapid Micropropagation of Populus x Euramericana Trees by Callus culture. In. *Trends in Plant Tissue Culture and Biotechnology*. L.K.Pareek (ed). Agrobios. Jodphur. 2005. P 262.
- [2] Anonim. Durian. Durian Research Centre. Fakultas Pertanian. Universitas Brawijaya (DRC-FPUB). www.fp.ub.ac.id. 2012. Diakses tanggal 20 Maret 2012.
- [3] BPP. Teknologi. Durian (*Bombaceae* sp.). Menegristek Bidang Pendayagunaan dan Pemasyarakatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi. Jakarta. www.ristek.go.id. 2012. Diakses tanggal 20 Maret 2012.
- [4] George, E.F. *Plant Propagation by Tissue Culture : The Technology*,