

REGENERASI TANAMAN BELIMBING MELALUI KULTUR AKAR SECARA *IN-VITRO*

(Plant Regeneration of Star Fruit through Root Culture)

L. Agus Sukamto

Puslitbang Biologi - LIPI
Jl. Ir. H. Juanda No. 18 Bogor 16122

ABSTRACT

Star fruit (*Averrhoa carambola* L.) is considered originally from Indonesia. *In-vitro* propagation of star fruit is a very few. Propagation of star fruit through leaf, seedling and cotyledon culture have succeeded but its propagation through root culture has not been reported. This experiment was carried out to know the responses of star fruit root culture. Roots of young seedling of star fruit grown *in-vitro* were cut and cultured on one-half Murashige & Skoog (MS) medium with or without addition of 1 mg/16-ben²ylaminopurine (BA). The response of explants were determined by age of the seedlings which young seedlings were more response than the old ones. Somatic embryogenesis occurred on explant star fruit roots after 9 weeks incubation. Explants produced little callus on excised roots and profused multiple shoots on MS with addition of BA, whereas explants only produced a few shoots without any producing callus on medium MS without any addition of BA. This indicated that star fruit can be propagated from its root which is a very rare success of the other plant regeneration from root culture.

Keywords - plant regeneration, star fruit, root culture, *in-vitro*, somatic embryogenesis

PENDAHULUAN

Belimbing adalah tanaman tahunan yang berbuah sepanjang tahun. Penyebaran tanaman ini di daerah tropis dan sub tropis. Buahnya diproduksi secara komersial, yang terus meningkat nilai ekonominya di negara-negara Karibia, Amerika Tengah, Amerika Selatan dan Asia Tenggara untuk diperdagangkan di pasar lokal maupun ekspor ke Amerika Utara dan Eropa (Litz and Griffis, 1989).

Pembuahan tanaman ini melalui penyerbukan silang hingga bibit yang berasal dari biji sangat besar variasinya, di samping umur vegetatifnya lama yaitu 4 - 5 tahun untuk mendapatkan buah pertamanya (Tidbury, 1976). Perbanyakkan vegetatif umumnya dilakukan dari okulasi atau sambung karena tanaman ini sukar disetek ataupun dicangkok. Untuk mendapatkan tanaman yang seragam dalam jumlah yang besar dengan kualitas buah yang tinggi perlu dilakukan penelitian perbanyakkan belimbing secara *in vitro*.

Perbanyakkan belimbing secara *in-vitro* telah dilakukan oleh Rao *et al.* (1981) dengan menggunakan eksplan kotiledon yang hanya membentuk kalus. Litz & Corover (1980) dan Litz & Griffis (1989) menggunakan eksplan daun yang dapat menghasilkan regenerasi tanaman tetapi prosentase terbentuknya rendah dan terjadi dalam periode yang pendek. Sukamto (1994) menggunakan eksplan kecambah dan

kotiledon yang dapat menghasilkan regenerasi tanaman dalam frekuensi yang cukup tinggi.

Kultur akar secara *in-vitro* masih sedikit dilaporkan, yaitu pada tanaman kapri (Torrey, 1954; 1961; Torrey and Zobel, 1977), kelapa sawit (Jones, 1974), kelapa (Bhalla-Sarin and Bagga, 1983; Schwabe, 1983), *Solanum khasianum* (Chaturvedi *et al.*, 1991), *Striga asiatica* (Wolf and Timko, 1991), jeruk nipis (Bhat *et al.*, 1992), *Acacia albida* (Gassamadia and Duhoux, 1992) dan *Populus tremula* (Ahuja, 1986; Tzfira *et al.*, 1996) yang tidak semuanya berhasil mendapatkan regenerasi tanaman. Penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui kemampuan akar belimbing untuk merenerasi menjadi tanaman hingga akan memperkaya khasanah tanaman yang dapat diperbanyak melalui kultur akar secara *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

Biji-biji belimbing dari buah yang masak didesinfeksi dengan menggunakan larutan 10% komersial clorox ditambah 2 tetes tween (pengurang tegangan permukaan air) untuk larutan 100 ml. Biji-biji dalam larutan tersebut dikocok selama 10 menit dan diulangi dengan larutan 5% clorox selama 10 menit dan dibilas dengan air steril. Medium yang digunakan yaitu Murashige and Skoog (MS) yang unsur hara makro dan mikronya dikurangi 50%, 20 g/l sukrosa,

1.7 g/1 gelrite dengan atau tanpa tambahan 1 mg/1 6-benzylaminopurine (BA). Medium diatur pHnya sekitar 5.7 sebelum diautoklaf. Medium ini diautoklaf selama 15 menit pada suhu 121° C dan tekanan 1 kg/cm².

Biji-biji belimbing yang telah didesinfestan ditanam pada medium tersebut di atas, satu biji per tabung reaksi. Setelah berkecambah, kecambah dikelompokkan berdasarkan umur fisiologis yang tercermin dari tinggi kecambah, dipotong pada pangkal batangnya (leher akar). Pangkal batang beserta akar dan potongan akar-akarnya ditanam pada kedua macam medium tsb. di atas secara acak lengkap. Kultur ini diinkubasi dalam kamar dengan suhu 25 - 26° C dengan pencahayaan alami dalam rumah kaca. Respon akar terhadap ke dua macam medium tsb diamati secara berkala. Data yang ada berupa kualitatif karena keterbatasan material eksplan.

HASIL

Potongan akar belimbing yang berasal dari kecambah yang umur fisiologisnya telah lanjut, tidak menunjukkan respon yang positif terhadap kultur secara *in-vitro*; sebaliknya potongan akar yang berasal dari kecambah yang umur fisiologisnya relatif muda menunjukkan respon perubahan setelah ditanam pada kultur secara *in-vitro*. Respon perubahan dari eksplan akar tersebut dapat dikatakan sangat lambat. Pada permulaannya, eksplan akar membengkak, kemudian kulit luarnya merekah. Somatik embriogenesis terjadi setelah 9 minggu dalam inkubasi, yang terbentuk pada rekahan akar tersebut, yaitu berupa embrio-embrio yang menyerupai 'protocorm like bodies' (plb) seperti halnya terjadi pada anggrek (Gambar 1). Sedangkan pada eksplan pangkal batang beserta akar, sebagian ujung-ujung akar yang terpotong membentuk kalus dalam medium MS dengan tambahan BA setelah 11 minggu inkubasi (Gambar 2), tetapi kalus ini tidak terbentuk dalam medium MS tanpa BA.

Frekuensi terbentuknya somatik embrio pada eksplan akar yang di tanam pada medium MS tanpa BA adalah rendah dan sebaliknya frekuensinya tinggi pada medium MS dengan tambahan BA. Dari somatik embrio tersebut tumbuh menjadi tunas-tunas kecambah setelah 23 minggu inkubasi (Gambar 3). Masing-masing tunas membentuk daun-daun muda dan tumbuh menjadi tanaman belimbing muda setelah 31 minggu inkubasi (Gambar 4).

PEMBAHASAN

Respon akar terhadap kultur secara *in-vitro* tergantung tingkat fisiologi kemasakan kecambah, yaitu makin muda kecambah makin respon terhadap

kultur. Hal ini sesuai dengan pendapat Tisserat *et al* (1979) yang mengatakan bahwa umur fisiologis eksplan adalah sangat penting untuk menentukan keberhasilannya dalam kultur jaringan. Dari hasil percobaan ini menunjukkan bahwa akar belimbing mampu untuk meregenerasi tanpa penambahan zat pengatur tumbuh dari luar, walaupun tambahan BA meningkatkan frekuensi terbentuknya somatik embrio. Diduga dalam akar belimbing telah terkandung zat pengatur tumbuh endogen yang cukup untuk memobilisasi sel-selnya guna membentuk individu-individu tanaman yang baru. Hal ini dapat terlihat pada tanaman belimbing yang tumbuh di lapangan terkadang membentuk tunas-tunas yang baru dari akar-akar yang terluka, juga pada tanaman *Populus tremula* (Tzifira *et al.*, 1996).

Tambahan BA meningkatkan frekuensi terbentuknya somatik embrio belimbing karena BA adalah zat pengatur tumbuh yang berfungsi untuk merangsang terbentuknya tunas-tunas. Hal yang serupa terjadi pada kultur akar tanaman *Acacia albida* (Gassamadia and Duhoux (1992) dan jeruk nipis (Bhat *et al.*, 1992). Pada kultur akar tumbuhan parasit *Striga asiatica* memerlukan zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin untuk regenerasinya (Wolf and Timko, 1991), sebaliknya kultur akar kelapa dan kelapa sawit hanya menghasilkan kalus tanpa terjadinya regenerasi tanaman (Jones, 1974; Bhalla-Sarin and Bagga, 1983; Schwabe, 1983).

Keberhasilan kultur akar belimbing secara *in-vitro* memungkinkan perbanyakan vegetatif belimbing dengan menggunakan akar sebagai material perbanyakan untuk mendapatkan jumlah bibit yang besar dan seragam dalam waktu yang relatif singkat. Walaupun eksplan yang digunakan berasal dari tanaman muda yang belum pernah berbuah, hasil regenerasi tanamannya dapat dijadikan sebagai batang bawah hingga setelah disambung/ okulasi akan memberikan kualitas buah yang seragam, disamping teknik ini dapat diaplikasikan pada tanaman dewasa hingga mendapatkan hasil buah yang sama kualitas dengan induknya. Juga keberhasilan ini memperkaya khasanah perbanyakan belimbing secara *in-vitro* selain dari kecambah, kotiledon dan daun pada khususnya dan perbanyakan tanaman dari eksplan akar pada umumnya.

KESIMPULAN DAN SARAN

Regenerasi tanaman belimbing dapat terjadi dari potongan akarnya pada medium MS tanpa tambahan zat pengatur tumbuh, walaupun penambahan zat pengatur tumbuh BA meningkatkan somatik embrio dan tunas yang terbentuk.

Tanaman belimbing dapat diperbanyak secara vegetatif dengan menggunakan akarnya secara *in-vitro*

dengan medium 1/2 MS dengan atau tanpa tambahan 1 mg/1 BA.

Pedu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai umur fisiologis kecambah belimbing dan tanaman dewasa yang akarnya respon terhadap kultur secara *in-vitro*, juga penggunaan zat pengatur tumbuh auxin untuk merangsang terbentuknya akar pada kecambah belimbing hasil perbanyakan kultur akarnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih saya tujukan kepada OTO-Bappenas yang telah memberikan bea siswa untuk tugas belajar di University of Hawaii, USA dan kepada Dr. Y. Sagawa yang telah membimbing dan mengijinkan pemakaian bahan di laboratoriumnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahuja MR. 1986.** Aspen. Dalam: *Handbook of Plant Cell Culture, Volume 4, Techniques and Applications*. DA Evans, WR Sharp and PV Ammirato (Editors). Macmillan Publishing Company. New York, him 626-651.
- Bhalla-Sarin N and Bagga S. 1983.** *In Vitro Culture of Embryos and Other Parts of Coconut nucifera*. Dalam: *Proceedings of National Seminar Plant Tissue Culture*, New Delhi, India, him 132-139.
- Bhat SB, Chitralekha P and Chandel KPS. 1992.** Regeneration of Plants from Long-term Root Culture of Lime, *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swing. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 29(1), 19-25.
- Chaturvedi HC, Sharma M and Sharma AK. 1991.** Conservation of Plant Genetic Resources through Excised Root Culture. Dalam: *Conservation of Plant Genetic Resources through In Vitro Methods*. PV Zakri, MN Normah, AGA Karim and MT Senawi (Editors). Proceedings of the MNCPCR-CRC International Workshop on Tissue Culture for the Conservation of Biodiversity and Plant Genetic Resources, Kualalumpur. Malaysia, him 29-41.
- Gassamadia YK and Duhoux E. 1992.** Root Culture and *In Vitro* Regeneration in *Acacia albida*. Dalam: *Proceedings of Production de Varieties Genetiquement Ameliorees*, Paris, France, him 183-194.
- Jones LH. 1974.** Propagation of Clonal Oil Palm by Tissue Culture. *Oil Palm News* 17, 1-8.
- Lite RE and Conover RA. 1980.** Partial Organogenesis in Tissue Cultures of *Averrhoa carambola*. *HortScience* 15(6), 735.
- Litz RE and Griffis JL Jr. 1989.** *Carambola (Averrhoa carambola L.)*. Dalam: *Biotechnology in Agriculture and Forestry 5, Trees II*. YPS Bajaj (Editor). Springer-Verlag. Berlin, him SI-61.
- Rao AN, Yeow MS, Kothagoda N and Hutchinsos JF. 1981.** Cotyledon Tissue Culture of Some Tropical Fruits. Dalam: *Tissue Culture of Economically Important Plants*. AN Rao (Editor). COSTED and ANBS. Singapore, him 124-137.
- Schwabe WW. 1983.** Attempts at Vegetative Propagation of Coconut Palm. Dalam: *Coconut Research & Development, Proceedings of International Symposium on Coconut Research and Development*. NM Nayar (Editor), Wiley Eastern limited. New Delhi, him 304-312.
- Sukanto LA. 1994.** Tissue Culture Propagation of Atemoya and Star Fruit. Dalam: *Fourth Annual International Tropical Fruit Conference*. CL Chia (Editor). Proceedings 4th Annual Hawaii Tropical Fruit Growers Conference. Hawaii, him 33-35.
- Tidbury GE. 1976.** *Averrhoa* spp. - Carambola and Bilimbi. Dalam: *The Propagation of Tropical Fruit Trees*. RJ Garner, SA Chauduri and Staff of the CBHPC (Editors). Commonwealth Agricultural Bureaux. England, him 291-303.
- Tisserat E, Esan EB and Murashige T. 1979.** Somatic Embryogenesis in Angiosperms. Dalam: *Horticultural Reviews Vol. 1*. J. Janick (Editor). The Avi Publishing Company, Inc. Wesport, Connecticut, halm 1-78.
- Torrey JG. 1954.** The Role of Vitamins and Micronutrient Elements in the Nutrition of the Apical Meristem of Pea Roots. *Plant Physiology* 29, 279-287.
- Torrey JG. 1961.** Kinetin as Trigger for Mitosis in Mature Endomitotic Plant Cells. *Experimental Cell Research* 23, 281-299.
- Torrey JG and Zobel R. 1977.** Root Growth and Morphogenesis. Dalam: *The Physiology of the Garden Pea*. JF Suncliff and JS Pate. (Editors). Academic Press. New York, him 119-152.
- Tzfira T, Ben-Meir H, Vainstein A and Altman A. 1996.** Highly Efficient Transformation and Regeneration of Aspen Plants through Shoot-bud Formation in Root Culture. *Plant Cell Reports* 15(8), 566-571.
- Wolf SJ and Timko MP. 1991.** *In Vitro* Root Culture: A Novel Approach to Study the Obligate Parasitic *Striga asiatica* (L.) Kuntze. *Plant Science* 73(2), 233-242.



Gambar 1. Somatik embriogenesis pada eksplan potongan akar belimbing



Gambar 2. Pembentukan kalus dan somatik embrio pada pangkal perakaran belimbing



Gambar 3. Tunas terbentuk dan somatik embrio dan kalus dan eksplan akar belimbing



Gambar 4. Regenerasi tanaman belimbing terjadi dan tunas-tunas yang terbentuk