

PENGARUH ZAT PENGATUR TUMBUH TERHADAP PERTUMBUHAN GLADIOL (*Gladiolus x gandavensis*) DAN UJI RESISTENSINYA TERHADAP EKSTRAK JAMU R *Fusarium oxysporum* SECARA IN VITRO

Tia SETIAWATI, Titin SUPRIATUN, Nia ROSSIANA

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Padjadjaran
Jatinangor Km 21, Sumedang 45363
Tel/Faks (022) 7796412. Email : biologiunpad@bdg.centrin.id

ABSTRACT

The research to study about The Effect of Grow Regulator Substance to Growth of Gladiol (*Gladiolus x gandavensis*) and Resistance Test to *Fusarium oxysporum* extract by in vitro was carried out. The research conducted experimentally used a complete random design with the single factor i.e. kinetin (0 ppm; 0.5 ppm; 1 ppm; 1.5 ppm; 2 ppm; 2.5 ppm; 3 ppm; 3.5 ppm; 4 ppm; 4.5 ppm and 5 ppm) for shoot induction and IBA (3 ppm; 3.5 ppm; 4 ppm; 4.5 ppm; 5 ppm; 5.5 ppm; 6 ppm; 6.5 ppm; 7 ppm dan 7.5 ppm) for root induction, and also *Fusarium* extract (0%, 10%, 20%, 30%, 40% dan 50% (v/v)) for the resistance test. The results showed that concentration of kinetin 3.5 ppm is the best for shoot induction with used buds as an explant in solid-MS medium by adding 0.1 ppm NAA and 150 mL/L coconut water. Concentration of IBA 5 ppm is the best for root induction with used shoot as an explant in liquid-MS medium by adding 0.1 ppm kinetin. Concentration of *Fusarium* extract 30% (v/v) could tolerance gladiol shoot.

Key words : *Gladiolus x gandavensis*, kinetin, IBA, *Fusarium oxysporum*, in vitro.

PENDAHULUAN

Gladiol merupakan tanaman bias yang mempunyai masa regenerasi yang lama dan mudah terserang penyakit layu akar akibat serangan jamur patogen *Fusarium oxysporum* (Gonsalves & Ferreira, 2000). Masa regenerasi Gladiol yang lama dapat dipercepat secara in vitro melalui teknik kultur jaringan. Melalui teknik kultur jaringan, tanaman baru yang dihasilkan akan mempunyai sifat yang sama bahkan dapat lebih baik dari tanaman induknya. Sifat tanaman yang lebih baik dapat diperoleh dengan pemberian suatu perlakuan misalnya ekstrak yang mengandung toksin dari suatu patogen (Pierik, 1998). Demikian halnya untuk memanipulasi tanaman supaya resisten terhadap suatu patogen dapat pula dilakukan melalui kultur jaringan.

Pada penelitian ini akan diuji tingkat toleransi Gladiol terhadap ekstrak jamur patogen penyebab layu akar yaitu *Fusarium oxysporum*. Ekstrak *Fusarium*

merupakan eksotoksin yang diperoleh dari eksresi jamur *Fusarium oxysporum* selama dalam media biakan. Pada konsentrasi tertentu ekstrak yang telah steril berperan sebagai penghambat atau pemacu pertumbuhan (van den Bulk, 1991 dalam Mariska, 2000). Racun utama dari *Fusarium oxysporum* penyebab layu akar adalah asam fusarat yang berfungsi dalam menghambat kerja enzim katalisa dan dapat mengakibatkan terjadinya proses lisis pada membran sel inang (Remotti, 1983 dalam Machius, 1999).

Keberhasilan kultur jaringan ditentukan oleh pemilihan eksplan, media dasar dan zat pengatur tumbuh yang tepat. Eksplan (bagian tanaman yang akan dikultur) harus bersifat embrionik. Pada Gladiol, eksplan yang sering digunakan adalah mata tunas yang terdapat pada kormus. Media Murashige & Skoog (MS) merupakan media yang paling umum digunakan untuk tanaman herbaceous

seperti Gladiol, karena mengandung nitrat lebih tinggi dibandingkan media lainnya (Wetter & Constabel, 1991). Zat pengatur tumbuh (zpt) yang diperlukan untuk mempercepat pertumbuhan dan perkembangan tanaman, pada umumnya digunakan kombinasi auksin dan sitokinin dalam kisaran konsentrasi tertentu. Dalam penelitian ini, untuk induksi tunas Gladiol digunakan auksin NAA dengan konsentrasi 0,1 ppm; yang dikombinasi dengan sitokinin yaitu kinetin yang diberikan dalam beberapa konsentrasi (3 hingga 7,5 ppm); penambahan air kelapa 150 mL/ L digunakan pula sebagai persenyawaan organik kompleks yang mengandung nutrisi termasuk zpt. Untuk induksi akar digunakan auksin IBA dalam beberapa konsentrasi dengan penambahan 0,1 ppm kinetin (sitokinin).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh zpt kinetin dan IBA terhadap pertumbuhan Gladiol serta mengetahui tingkat ketahanannya terhadap pemberian ekstrak jamur *Fusarium oxysporum* secara *in vitro*. Selain itu penelitian bertujuan untuk mendapatkan konsentrasi kinetin terbaik untuk induksi tunas Gladiol dan konsentrasi IBA terbaik untuk induksi akar Gladiol serta mendapatkan konsentrasi maksimum ekstrak *Fusarium* yang dapat ditoleransi oleh tunas Gladiol.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan meliputi kormus Gladiol, strain jamur *Fusarium oxysporum*, media dasar MS, agar-agar, zpt auksin (NAA dan IBA), sitokinin (kinetin), air kelapa, media penumbuh jamur Sabouroud Agar (SA), alkohol, detergen, NaOH, HCl, Natrium hipoklorit, akuades, HgCl₂.

Tata kerja meliputi : (1) **Sterilisasi Alat dan Eksplan** : peralatan disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 15 psi. Laminar air flow cabinet disterilkan dengan sinar UV dan dibersihkan dengan kapas yang telah dibasahi alkohol 70%. Eksplan disterilkan dengan terlebih dahulu mencuci kormus lalu dicelupkan dalam

alkohol 70% dan dilalukan di atas api. Eksplan berupa mata tunas (1cm²) yang diambil dari kormus selanjutnya direndam dalam HgCl₂ 0,04%, lalu dibilas akuades steril. (2) **Pembuatan Ekstrak *Fusarium*** : Kultur *Fusarium* dipotong-potong 5 cm x 5 cm, dimasukkan ke dalam 100 mL media MS (cair tanpa hormon. Kultur diinkubasi dan dikocok dengan shaker 120 rpm lalu diuji tingkat patogenitasnya. Ekstrak disterilkan melalui teknik penyaringan bertingkat. (3) **Pembuatan Media** : (a) media induksi tunas, yaitu media MS padat dengan penambahan 0,1 ppm NAA + 150 mL/L air kelapa + kinetin (10 variasi konsentrasi : 0,5 ppm; 1 ppm; 1,5 ppm; 2 ppm; 2,5 ppm; 3 ppm; 3,5 ppm; 4 ppm; 4,5 ppm dan 5 ppm). Kontrol : media tanpa kinetin. Media induksi akar, yaitu media MS cair dengan penambahan 0,1 ppm kinetin + IBA (10 variasi konsentrasi : 3 ppm; 3,5 ppm; 4 ppm; 4,5 ppm; 5 ppm; 5,5 ppm; 6 ppm; 6,5 ppm; 7 ppm dan 7,5 ppm). Kontrol media tanpa IBA. (c) Media untuk uji resistensi terhadap ekggakifggarium, yaitu media induksi tunas terbaik dengan penambahan ekstrak *Fumrium* (6 variasi konsentrasi : 0%, 10%, 20%, 30%, 40% dan 50% (v/v)). (4) **Induksi Tunas dan Induksi Akar** : Eksplan mata tunas ditanam dalam media induksi tunas selama 9 minggu. Tunas yang telah tumbuh diinduksi perakarannya dengan menanam tunas tersebut ke dalam media induksi akar selama 4 minggu. Parameter yang diamati : jumlah tunas, tinggi tunas, jumlah akar dan panjang akar. (5) **Uji Resistensi terhadap Ekstrak *Fusarium***: Tunas ditanam pada media induksi tunas terbaik yang telah diberi ekstrak *Fusarium* dan diinkubasi selama 3 minggu. Parameter yang diamati : persentase tunas yang hidup setiap minggu.

Analisis data dilakukan secara statistik menggunakan Sidik Ragam dan bila terdapat perbedaan antar perlakuan dilakukan uji lanjutan dengan uji jarak berganda Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Induksi tunas

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa pemberian kinetin berpengaruh terhadap jumlah tunas. Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dilakukan uji jarak berganda Duncan yang hasilnya tertera pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Rata-rata jumlah tunas Gladiol pada konsentrasi kinetin yang berbeda.

Perlakuan	Rata-rata jumlah tunas
Kontrol (tanpa zpt)	0,00 (a)
Kinetin 0,5 ppm	0,00 (a)
Kinetin 1 ppm	0,00 (a)
Kinetin 1,5 ppm	0,00 (a)
Kinetin 2 ppm	0,00 (a)
Kinetin 2,5 ppm	0,00 (a)
Kinetin 3 ppm	10,86 (b)
Kinetin 3,5 ppm	16,43 (c)
Kinetin 4 ppm	16,00 (c)
Kinetin 4,5 ppm	0,00 (a)
Kinetin 5 ppm	0,00 (a)

Ket : Huruf yang berbeda menunjukkan berbeda nyata menurut uji jarak berganda Duncan pada α 1%

Hasil sidik ragam terhadap tunas menunjukkan bahwa pemberian kinetin berpengaruh terhadap tunas. Perbedaan antar perlakuan diuji melalui uji jarak berganda Duncan yang hasilnya dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Rata-rata tunas Gladiol pada konsentrasi kinetin yang berbeda

Perlakuan	Rata-rata tinggi tunas (mm)
Kinetin 3 ppm	14,00 (a)
Kinetin 3,5 ppm	31,00 (b)
Kinetin 4 ppm	13,00 (a)

Ket : Huruf yang berbeda menunjukkan berbeda nyata menurut uji jarak berganda Duncan pada α 1%

Dari **Tabel 1** tampak bahwa kinetin 3 ppm; 3,5 ppm dan 4 ppm mampu menginduksi tunas. jumlah tunas terbanyak terdapat pada perlakuan kinetin 3,5 ppm.

Pada **Tabel 2** tampak bahwa perlakuan kinetin 3,5 ppm menghasilkan tunas tertinggi (31 mm). Dengan demikian dapat dikatakan bahwa kinetin 3,5 ppm merupakan konsentrasi terbaik dari kisaran konsentrasi yang digunakan dalam induksi tunas Gladiol dan eksplan mata tunas.

Induksi tunas tidak terjadi pada konsentrasi di bawah 3 ppm, hal tersebut diduga disebabkan kinetin pada konsentrasi di bawah 3 ppm belum dapat mencukupi kebutuhan eksplan untuk pembentukan tunas. Demikian pula pada konsentrasi kinetin di atas 4 ppm, induksi tunas tidak terjadi karena pada konsentrasi tersebut kebutuhan eksplan untuk pembentukan tunas sudah terpenuhi dan zpt endogen yang secara alami disintesis jaringan eksplan, sehingga pembenan zpt yang melebihi kebutuhan eksplan dapat menyebabkan hambatan pertumbuhan. Respon pertumbuhan eksplan terhadap zpt merupakan hasil interaksi antara zpt endogen dengan zpt eksogen yang ditambahkan ke dalam medium (George & Sherdngton, 1984).

Induksi Akar

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa IBA berpengaruh terhadap jumlah akar untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dilakukan uji jarak berganda Duncan yang hasilnya tertera pada **Tabel 3**.

Data panjang akar dianalisis dengan sidik ragam yang hasilnya menunjukkan bahwa pemberian IBA berpengaruh terhadap panjang akar. Perbedaan antar perlakuan diuji melalui uji jarak berganda Duncan yang hasilnya dapat dilihat pada **Tabel 4**.

Tabel 3. Rata-rata jumlah Akar Gladiol pada konsentrasi IBA yang berbeda

Perlakuan	Rata-rata jumlah akar
Kontrol (tanpa zpt)	0,00 (a)
IBA 3 ppm	0,00 (a)
IBA 3,5 ppm	0,00 (a)
IBA 4 ppm	0,00 (a)
IBA 4,5 ppm	1,43 (b)
IBA 5 ppm	4,71 (c)
IBA 5,5 ppm	1,57 (b)
IBA 6 ppm	0,00 (a)
IBA 6,5 ppm	0,00 (a)
IBA 7 ppm	0,00 (a)
IBA 7,5 ppm	0,00 (a)

Ket : Huruf yang berbeda menunjukkan berbeda nyata menurut uji jarak berganda Duncan pada α 1%

Tabel 4. Rata-rata panjang akar Gladiol pada konsentrasi IBA yang berbeda

Perlakuan	Rata-rata panjang akar (mm)
IBA 4,5 ppm	14,00 (a)
IBA 5 ppm	31,00 (b)
IBA 5,5 ppm	13,00 (a)

Ket. Huruf yang berbeda menunjukkan berbeda nyata menurut uji jarak berganda Duncan pada α 1 %

Dari **Tabel 3** terlihat bahwa jumlah akar terbanyak (4,71) terdapat pada perlakuan IBA 5 ppm. Demikian pula pada **Tabel 4** terlihat bahwa pemberian IBA- 5 ppm menghasilkan pertumbuhan akar terbanyak dengan panjang akar 31,00 mm. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa konsentrasi IBA 5 ppm merupakan konsentrasi terbaik dari kisaran yang digunakan dalam untuk induksi akar Gladiol.

Tabel 3 memperlihatkan bahwa pembentukan akar tidak terjadi pada perlakuan IBA < 4,5 ppm, hal ini dapat

disebabkan pada konsentrasi tersebut, kebutuhan eksplan untuk pembentukan akar belum terpenuhi. Konsentrasi zpt dapat menjadi faktor penentu keberhasilan eksplan dalam pembentukan organ/organogenesis. Pembentukan akar dapat pula terhambat jika pemberian zpt melebihi kebutuhan eksplan, karena konsentrasi zpt yang terlalu dapat menjadi toksik bagi jaringan eksplan (Hendaryono & Wijayani, 1994). Fenomena ini dapat terlihat pada pemberian IBA > 5 ppm dimana induksi akar tidak terjadi.

Demikian halnya pada perpanjangan akar, konsentrasi zpt sangat berpengaruh. Panjang akar terbaik terdapat pada perlakuan IBA 5 ppm, perlakuan IBA 4,5 ppm dan IBA 5,5 ppm menunjukkan nilai rata-rata panjang akar yang lebih kecil daripada nilai rata-rata panjang akar pada perlakuan IBA 5 ppm (**Tabel 4**). Dalam hal ini dapat dikatakan bahwa konsentrasi IBA 4,5 ppm masih belum mencukupi kebutuhan eksplan untuk dapat memacu perpanjangan akar yang optimum, sedangkan konsentrasi IBA 5,5 ppm diduga terlalu tinggi sehingga dapat menimbulkan efek negatif dengan menghambat perpanjangan akar.

Pengaruh ekstrak Fusarium terhadap tunas Gladiol.

Hasil sidik ragam yang hasilnya menunjukkan bahwa pemberian ekstrak Fusarium berpengaruh terhadap persentase tunas Gladiol yang hidup. Untuk melihat perbedaan antar perlakuan dilakukan uji jarak berganda Duncan yang hasilnya dapat dilihat pada **Tabel 5**.

Tabel 5. Persentase tunas Gladiol yang hidup pada beberapa konsentrasi ekstrak Fusarium

Ekstrak <i>Fusarium</i> (v/v)	Persentase tunas Gladiol yang hidup		
	Minggu ke-1	Minggu ke-2	Minggu ke-3
0%	100,00 % (c)	100,00 % (b)	100,00 % (b)
10%	100,00 % (c)	100,00 % (b)	100,00 % (b)
20%	100,00 % (c)	100,00 % (b)	100,00 % (b)
30%	100,00 % (c)	100,00 % (b)	100,00 % (b)
40%	54,14% (b)	28,57% (a)	28,57% (a)
50%	0,00% (a)	0,00% (a)	0,00% (a)

Ket. Huruf yang berbeda menunjukkan berbeda yang nyata menurut uji jarak berganda Duncan pada α 1%

Dari tabel di atas tampak bahwa pada minggu ke-1 sampai ke-3, tunas yang hidup mencapai 100% pada pemberian ekstrak *Fusarium* 0% - 30%. Pada konsentrasi ekstrak *Fusarium* 30%, selain tunas dapat bertahan hidup terjadi pula pertumbuhan yang lebih pesat, terlihat dengan adanya peningkatan ukuran tunas sejak minggu ke-1 dan tampak lebih jelas pada minggu ke-2. Hal ini dapat terjadi karena ekstrak *Fusarium* selain dapat bertindak sebagai komponen penyeleksi jaringan terhadap patogen juga dapat mempercepat pertumbuhan sel atau jaringan (van de Bulk, 1991 dalam Kosmiatin, 2000). Pada konsentrasi 40%, tunas yang bertahan hidup hanya 54,14% pada minggu ke-1 dan menurun hingga 28,57% pada minggu ke-2 dan ke-3. Pada konsentrasi tertinggi (50%) tidak terlihat tunas yang hidup.

Konsentrasi ekstrak *Fusarium* 30% merupakan konsentrasi ekstrak yang dapat ditoleransi oleh tunas Gladiol sehingga dapat dijadikan titik awal untuk uji resistensi tanaman Gladiol terhadap *Foxysperum*.

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa konsentrasi kinetin terbaik untuk ditambahkan pada media MS padat yang mengandung 0,1 ppm NAA dan 150 mL/L air kelapa dalam menginduksi tunas secara in vitro dan eksplan mata tunas Gladiol adalah 3,5 ppm. Konsentrasi IBA terbaik untuk ditambahkan pada media MS-cair yang mengandung 0,1 ppm kinetin, dalam menginduksi akar secara in vitro dari eksplan tunas Gladiol adalah 5 ppm. Konsentrasi ekstrak *Fusarium oxysporum* 30% (v/v), dapat ditoleransi oleh tunas Gladiol secara in vitro.

DAFTAR PUSTAKA

- George, E.F. & P.D. Sherrington. 1984. *Plant Propagation*. Exegetic Limited.
- Gonzalves, A.K. & S.A. Ferreira. 2000. *Fusarium oxysporum*. Departement of plant pathology. University of Hawaii at Manoa.
- Hendaryono, D.P.S. & A. Wijayam. 1994. *Teknik Kultur Jaringan*. Kanisius Y Jurnal Bioteknologi Jakarta.
- Kosmiatin, M., I. Mariska, a. Husni, Y. Rusyadi, Hobir & M. Tombe. 2000. Seleksi silang ketahanan tunas in vitro panili terhadap asam fusarat dan ekstrak *Fusarium oxysporum*, *Jurnal Bioteknologi Pertanian*. 5(2): 77-83.
- Mariska, I., M. Tombe, M. Kosmiatin, Hobir & A. Husni. 2000. Seleksi silang tunas panili secara in vitro dan pengujiannya terhadap ekstrak *Fusarium oxysporum*. *Laporan Penelitian*, Balai penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan Bogor
- Mathius, N.T. & N. Haris. 1999. Induction of genetic variation of banana cv. Nangka by gamma Co-60 irradiation and fusaric acid. *Menara Perkebunan*. 67(1): 13-22.
- Muharam, A., T. Sutater, Sjaifullah & Kusumo. 1995. *Gladiol* Balai Penelitian Tanaman Hias dan Balai Penelitian Pengembangan Pertanian. Jakarta.
- Pierik, R.L.M. 1998. *In Vitro Culture of Higher Plant*. Kluwer Academic Publisher. Dordrecit Boston/ London
- Rukmana, R. 2000. *Gladiol*. Penerbit kanisius. Yogyakarta
- Wetter, L.R. & F. Constabel. 1991. *Metoda Kultur Jaringan Tanaman*. Penerbit ITB Bandung