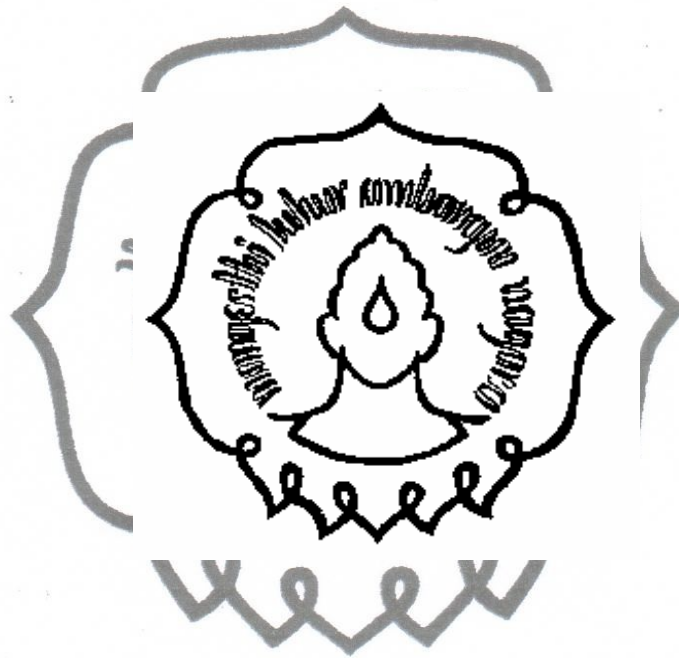


**KAJIAN PENGGUNAAN BAP DAN IAA UNTUK MERANGSANG
PEMBENTUKAN TUNAS LENGKENG DATARAN RENDAH
(*Dimocarpus longan* L.) VAR. PINGPONG
SECARA *IN VITRO***



Disusun oleh :

**SRI SUNARNI
H0106100**

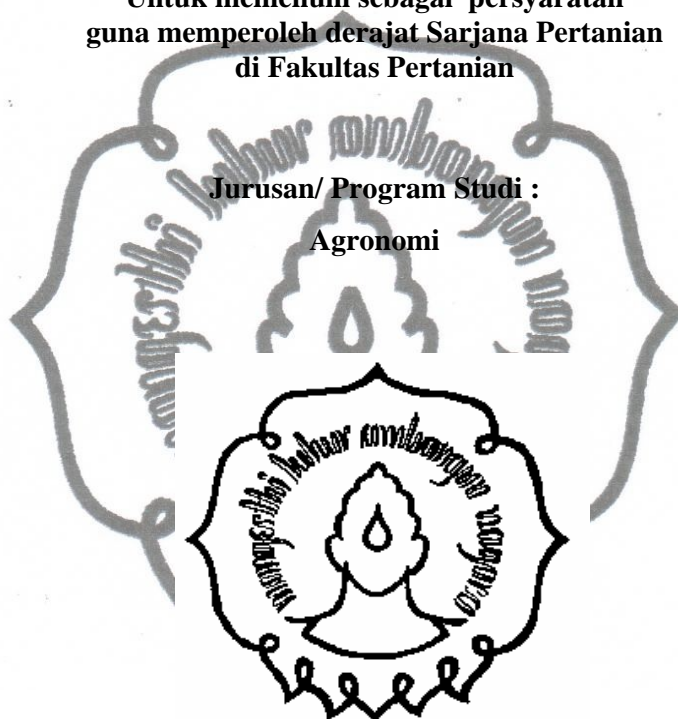
**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA
2010**

commit to user

**KAJIAN PEGGUNAAN BAP DAN IAA UNTUK MERANGSANG
PEMBENTUKAN TUNAS LENGKENG DATARAN RENDAH
(*Dimocarpus longan* L.) VAR. PINGPONG
SECARA *IN VITRO***

**Skripsi
Untuk memenuhi sebagai persyaratan
guna memperoleh derajat Sarjana Pertanian
di Fakultas Pertanian**

**Jurusan/ Program Studi :
Agronomi**



Disusun oleh :

**SRI SUNARNI
H0106100**

**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA
2010**

commit to user

HALAMAN PENGESAHAN**KAJIAN PENGGUNAAN BAP DAN IAA UNTUK MERANGSANG
PEMBENTUKAN TUNAS LENGKENG DATARAN RENDAH
(*Dimocarpus longan* L.) VAR. PINGPONG
SECARA *IN VITRO***

yang dipersiapkan dan disusun oleh

SRI SUNARNI
H0106100

telah dipertahankan di depan Dewan Penguji
Pada tanggal 1 April 2010
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Ketua

Anggota I

Anggota II

Ir. Endang Setia Muliawati, MSi
NIP. 196407131988032001

Ir. Retna Bandriyati Arni Putri, MS
NIP. 196411141988032001

Prof. Dr. Ir. Ahmad Yunus, MS
NIP. 19610717198601001

Surakarta, April 2010

Universitas Sebelas Maret Surakarta
Fakultas Pertanian
Dekan

Prof. Dr. Ir. H. Suntoro, MS
NIP. 195512171982031003

commit to user

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT atas segala limpahan rahmat-Nya kepada penulis sehingga penyusunan skripsi dengan judul “Kajian Penggunaan BAP dan IAA untuk Merangsang Pembentukan Tunas Lengkeng Dataran Rendah (*Dimocarpus longan* L.) Var. Pingpong secara *In Vitro*” dapat terselesaikan dengan baik tanpa halangan yang berarti. Penulis mendapatkan bantuan dari berbagai pihak yang telah membantu. Terima kasih penulis ucapkan kepada pihak-pihak antara lain :

1. Prof. Dr. Ir. Suntoro, MS selaku Dekan Fakultas Pertanian UNS
2. Ir. Wartoyo SP., MS selaku Ketua Jurusan Program Studi Agronomi FP UNS
3. Dr. Ir. Endang Setia Muliawati, MSi dan Ir. Retna Bandriyati Arni Putri, MS selaku Pembimbing Utama dan Pendamping Skripsi atas segala bimbingan, ilmu serta pengarahan.
4. Prof. Dr. Ir. Ahmad Yunus, MS selaku dosen Penguji yang telah memberikan bimbingan dan arahan baik dalam studi penulis dan memberikan masukan dan saran pada penyusunan skripsi ini.
5. Ir. H. S. Gutomo, MP selaku Pembimbing Akademik
6. Keluarga tercinta : Bapak, Ibu, Kakak-kakakku yang selalu memberi dukungan semangat dan doa yang tidak pernah putus.
7. Teman-teman Agronomi angkatan 2006 dan teman-teman yang telah memberikan bantuan, dukungan, dan motivasinya selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.
8. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu penulis selama penelitian dan penyusunan skripsi.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari sempurna. Penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun. Demikian, semoga skripsi ini bermanfaat bagi penulis khususnya dan pembaca pada umumnya.

Surakarta, April 2010

Penulis

commit to user

DAFTAR ISI

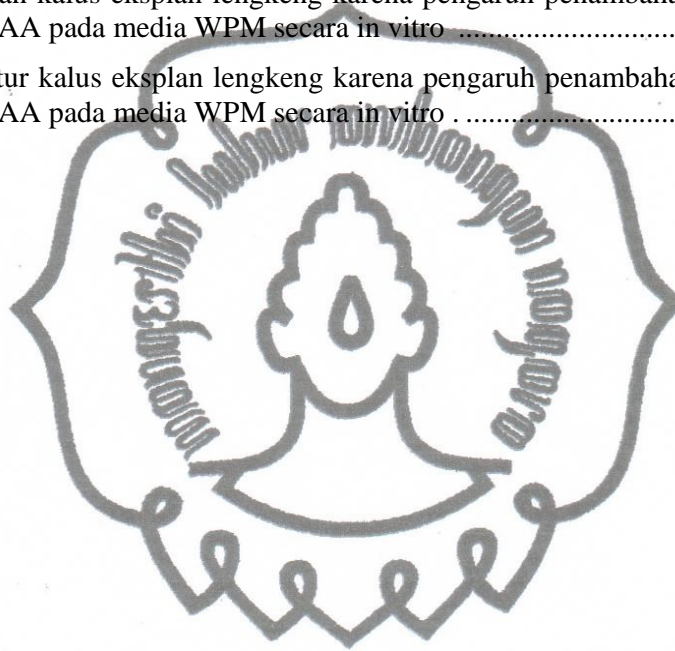
	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
RINGKASAN	ix
SUMMARY	x
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah	2
C. Tujuan Penelitian	3
D. Hipotesis	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Tanaman Lengkeng Dataran Rendah (<i>Dimocarpus longan L.</i>)	4
B. Kultur Jaringan	6
C. Media Kultur Jaringan <i>Woody Plant Medium</i> (WPM)	8
D. Zat Pengatur Tumbuh	9
III. METODE PENELITIAN	12
A. Waktu dan Tempat Penelitian	12
B. Bahan dan Alat Penelitian	12
1. Bahan Penelitian	12
2. Alat Penelitian	12
C. Rancangan Penelitian	13
D. Pelaksanaan Penelitian	13
E. Variabel Pengamatan	16

commit to user

F. Analisis Data.....	17
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	18
A. Kalus	18
1. Persentase Pembentukan Kalus	18
2. Warna Kalus	19
3. Ukuran Kalus	21
4. Tekstur Kalus	23
B. Tunas	25
1. Persentase Pembentukan Tunas Lateral.....	25
2. Jumlah Tunas.....	26
3. Panjang Tunas.....	28
C. Subkultur	30
V. KESIMPULAN DAN SARAN	31
A. Kesimpulan	31
B. Saran	31
DAFTAR PUSTAKA.....	32
LAMPIRAN.....	35

DAFTAR TABEL

Nomor	Judul	Halaman
1.	Warna kalus eksplan lengkung karena pengaruh penambahan BAP dan IAA pada media WPM secara in vitro.	20
2.	Ukuran kalus eksplan lengkung karena pengaruh penambahan BAP dan IAA pada media WPM secara in vitro	22
3.	Tekstur kalus eksplan lengkung karena pengaruh penambahan BAP dan IAA pada media WPM secara in vitro	24

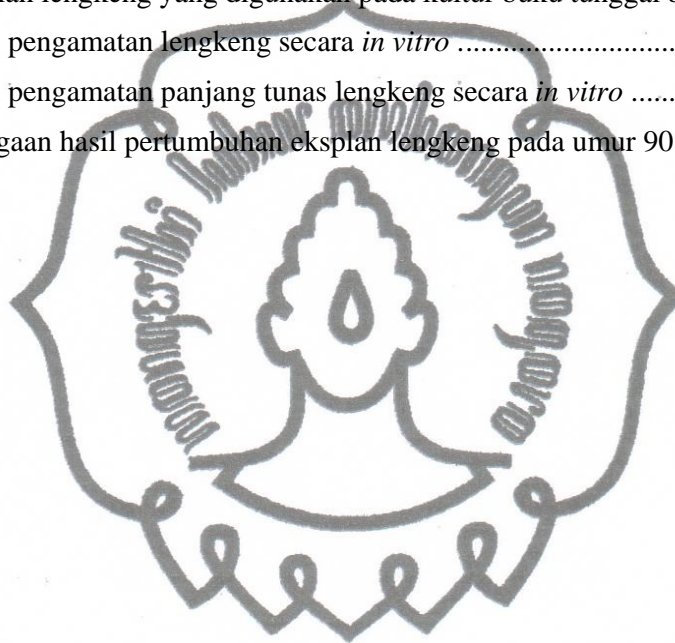


DAFTAR GAMBAR

Nomor	Judul	Halaman
1.	Persentase pembentukan kalus eksplan lengkung pada berbagai konsentrasi BAP dan IAA dengan media WPM.....	18
2.	Kriteria penilaian berdasarkan warna kalus lengkung pada umur 90 HST pada media WPM dengan penambahan BAP dan IAA	19
3.	Kriteria penilaian berdasarkan ukuran kalus lengkung pada umur 90 HST pada media WPM dengan penambahan BAP dan IAA.....	21
4.	Kriteria penilaian berdasarkan tekstur kalus lengkung pada umur 90 HST pada media WPM dengan penambahan BAP dan IAA	23
5.	Persentase tunas lateral eksplan lengkung pada berbagai konsentrasi BAP dan IAA dengan media WPM.	25
6.	Jumlah tunas lateral eksplan lengkung saat 90 HST	26
7.	Jumlah tunas lateral eksplan lengkung pada berbagai konsentrasi BAP dan IAA dengan media WPM.	27
8.	Rata-rata panjang tunas lateral eksplan lengkung pada berbagai konsentrasi BAP dan IAA dengan media WPM	29
9.	Panjang tunas eksplan lengkung pada umur 90 HST	29
10.	Perbandingan eksplan lengkung sebelum dan sesudah disubkultur selama 40 HST	30

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Judul	Halaman
1.	Komposisi media <i>Woody Plants Medium</i> (WPM).....	36
2.	Perhitungan penambahan BAP dan IAA dalam media WPM	37
3.	Eksplan lengkung yang digunakan pada kultur buku tunggal batang..	39
4.	Hasil pengamatan lengkung secara <i>in vitro</i>	40
5.	Hasil pengamatan panjang tunas lengkung secara <i>in vitro</i>	41
6.	Keragaan hasil pertumbuhan eksplan lengkung pada umur 90 HST ..	42



**KAJIAN PENGGUNAAN BAP DAN IAA UNTUK MERANGSANG
PEMBENTUKAN TUNAS LENGKENG DATARAN RENDAH
(*Dimocarpus longan* L.) VAR. PINGPONG
SECARA *IN VITRO***

SRI SUNARNI

H 0106100

RINGKASAN

Perbanyakan lengkeng biasanya melalui sambung susu, sehingga dapat berbuah pada umur empat tahun. Teknik sambung susu membutuhkan tunas sebagai batang atas yang mengakibatkan induk sebagai batang atas menjadi rusak. Melalui teknik kultur jaringan, diharapkan memperoleh bibit yang sama dengan induknya (*true to type*) dalam jumlah yang banyak, tetapi tidak merusak pohon induk. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan konsentrasi BAP dan IAA yang tepat untuk perbanyakan tunas secara *in vitro* menggunakan eksplan pucuk tanaman lengkeng (*D. longan*). Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fisiologi dan Bioteknologi Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta pada bulan Agustus 2009 – Januari 2010.

Percobaan ini menggunakan Rancangan Acak Legkap (RAL) dengan 2 faktor perlakuan dan 3 ulangan. Faktor pertama adalah taraf konsentrasi BAP, yaitu : tanpa BAP, 0,5 ppm, 1 ppm, 2 ppm, dan 3 ppm. Faktor kedua adalah taraf konsentrasi IAA, yaitu : tanpa IAA, 0,5 ppm, 1 ppm, 2 ppm, dan 3 ppm. Variabel pengamatan meliputi persentase pembentukan kalus, warna kalus, ukuran kalus, tekstur kalus, persentase pembentukan tunas lateral, jumlah tunas, panjang tunas.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada semua perlakuan menumbuhkan kalus tetapi kalus belum dapat berdiferensiasi membentuk tunas. Tunas yang terbentuk merupakan tunas lateral, dimana perlakuan BAP 3 ppm dan IAA 3 ppm menghasilkan panjang tunas yaitu 9,3 mm. Konsentrasi BAP 0,5 ppm dan IAA 0,5 ppm merupakan keseimbangan konsentrasi yang maksimal untuk penggandaan jumlah tunas lateral sebanyak 4.

commit to user

**STUDY OF THE USING OF BAP AND IAA TO STIMULATE THE
FORMATION OF LOW LAND LONGAN SHOOT**

(*Dimocarpus logan* L.) VAR. PINGPONG

IN VITRO

SRI SUNARNI

H0106100

SUMMARY

Propagation of longan usually through "sambung susu" which obtained plant that fruit in four years. "Sambung susu" method required shoot as entres consequence in parental damage. Tissue culture was expected to produce true to type seed in large number without causing parental damage. The research purpose were to obtain concentration of BAP and IAA on explants for shoot growth of longan explants (*D. longan*) in *in vitro*. This research was conducted in August 2009 to January 2010 in Plant Physiology and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Sebelas Maret University, Surakarta.

The experimental design was use Completely Randomize Design (CRD) with two factors and three replication. The first factor was level of BAP concentrations, which were: without BAP (B0), BAP 0.5 ppm (B1), BAP 1 ppm (B2), BAP 2 ppm (B3), and BAP 3 ppm (B4). The second factor was level of IAA concentration, were: without IAA (A0), IAA 0.5 ppm (B1), IAA 1 ppm (B2), IAA 2 ppm (B3), and IAA 3 ppm (B4). Variables observed were percentage of callus formation, color of callus, size of callus, texture of callus, percentage of lateral shoot formation, number of shoot, length of shoot and subculture.

Result of research showed that all treatments produce calluses but it's callus haven't been succeeded for shoot differentiation. Shoot formed originate from lateral shoot. Treatment of BAP 3 ppm and IAA 3 ppm produce maximum length of shoot at 9.3 mm. Concentration of BAP 0.5 ppm and IAA 0.5 ppm was a balance combination for shoot multiplication by 4 (four).

commit to user

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Lengkeng (*Dimocarpus longan* L.) merupakan salah satu buah unggulan Jawa Tengah, yang banyak di tanam di daerah dengan ketinggian 900-1000 m dpl seperti Salatiga, Ambarawa, Temanggung, Pingit, dan Bandungan. Lengkeng termasuk tanaman buah yang digemari masyarakat, terutama karena rasanya sangat manis serta daging buahnya berwarna putih bening dan berair dengan aroma harum yang khas. Saat ini lengkeng mempunyai potensi pengembangan yang baik, tetapi di pasaran didominasi oleh lengkeng impor yang lebih bercitarasa seperti jus yang sangat manis dengan daging buah yang tebal, walaupun harganya relatif mahal.

Harga bibit lengkeng yang mahal mendorong masyarakat peminat lengkeng memilih menggunakan bibit asal biji yang harganya lebih murah. Penggunaan bibit asal biji memungkinkan munculnya berbagai penyimpangan sifat dari induknya dan umur berbuahnya cukup lama (lebih dari tujuh tahun). Selain itu ada peluang bibit yang tumbuh merupakan lengkeng jantan, sehingga tidak dapat berbuah. Pengusaha bibit biasanya membiakkan lengkeng menggunakan teknik sambung susu dan penempelan mata tunas (okulasi). Berdasarkan teknik tersebut diperlukan batang bawah yang umumnya menggunakan bibit dari biji dan batang atas yang mempunyai sifat unggul dalam hal kualitas dan hasil buah. Teknik pembiakan tersebut mempunyai kelemahan yakni tanaman sumber batang atas pada sambung susu lama kelamaan akan rusak. Oleh karena itu, untuk mengembangkan bibit lengkeng lebih cepat tanpa merusak tanaman induk dilakukan upaya perbanyakan tunas melalui teknik kultur jaringan, yang hasilnya akan disambungkan dengan batang bawah yang berasal dari biji.

Menurut Wetherell (1992) media kultur yang memenuhi syarat adalah media yang mengandung nutrisi makro dan mikro dalam kadar dan perbandingan tertentu, serta sumber energi (umumnya digunakan sukrosa). Salah satu komponen yang menentukan keberhasilan kultur jaringan adalah

zat pengatur tumbuh (ZPT). Dalam aplikasi teknik kultur jaringan zat pengatur tumbuh diperlukan untuk merangsang pertumbuhan dan morfogenesis dalam kultur sel, jaringan dan organ (Gunawan, 1987). Jenis dan konsentrasi ZPT tergantung pada tujuan dan tahap dalam pengkulturan (Yusnita, 2003).

Pada percobaan lengkung zat pengatur tumbuh yang digunakan adalah sitokinin dan auksin. Sitokinin yang biasa digunakan 6-Benzil Amino Purin (BAP) dan kinetin, sedang auksin yang digunakan adalah Indol Acetat Acid (IAA). Zat pengatur tumbuh tersebut diperlukan untuk merangsang pertumbuhan eksplan. Menurut Hendaryono dan Wijayanti (1994) pembentukan kalus, jaringan kuncup dan jaringan akar ditentukan oleh penggunaan zat pengatur tumbuh yang tepat baik macam maupun konsentrasinya.

Studi pendahuluan telah dilakukan oleh Arniputri (2006) dengan menggunakan rancangan penelitian 2ⁿ faktorial yang melibatkan perlakuan, menunjukkan bahwa penggunaan jenis media *Woody Plant Medium* (WPM) jauh lebih baik pada konsentrasi 0,5 ppm karena sampai 5 ppm pengaruh negatif yang muncul, penambahan bahan organik berupa air kelapa sampai 20 persen tidak mendukung pertumbuhan, dan penggunaan IAA terlihat lebih baik pengaruhnya dibandingkan NAA.

B. Perumusan Masalah

Tanaman lengkung dataran rendah sangat berpotensi di Indonesia. Ada beberapa faktor yang menjadi kendala dalam budidaya lengkung yaitu perbanyakan dengan biji tidak dianjurkan karena umur berbuahnya cukup lama (lebih dari tujuh tahun) dan sering tumbuh menjadi lengkung jantan yang tidak dapat berbuah. Perbanyakan lengkung biasanya dilakukan dengan cangkok dan okulasi. Bibit okulasi/cangkokan mulai berbuah pada umur empat tahun. Pembiakan dengan okulasi juga mempunyai kelemahan yakni sebagai batang atas lama kelamaan akan rusak.

Harga bibit yang mahal menjadi kendala dalam pengembangan budidayanya. Melihat besarnya potensi pengembangan lengkeng di dataran rendah yang jauh lebih luas, maka perlu segera diupayakan percepatan penyediaan bibit lengkeng. Melalui teknik kultur jaringan, diharapkan memperoleh sumber batang atas yang sama dengan induknya (*true to type*) dalam jumlah yang banyak, tidak merusak pohon induk, dan harganya menjadi lebih murah. Selain itu, penggunaan BAP dan IAA dengan konsentrasi yang tepat diharapkan dapat mempercepat dan memperbanyak pembentukan tunas lengkeng secara *in vitro*.

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan konsentrasi BAP dan IAA yang tepat untuk pembentukan tunas lengkeng secara *in vitro*.

D. Hipotesis

Konsentrasi BAP dan IAA pada taraf 3 ppm dapat berpengaruh terhadap pembentukan tunas lengkeng secara *in vitro*.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Lengkeng Dataran Rendah (*Dimocarpus longan* L.)

Secara botani tanaman lengkung dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivisio	: Spermatophyta
Divisio	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub-kelas	: Rosidae
Ordo	: Sapindales
Familia	: Sapindaceae
Genus	: <i>Dimocarpus</i>
Spesies	: <i>Dimocarpus longan</i> L. (Anonim, 2005a).

Buah fenomenal merupakan julukan lengkung dataran rendah salah satunya adalah lengkung pingpong. Kehadirannya 2 tahun yang lalu meruntuhkan anggapan bahwa lengkung hanya dapat berbuah di dataran tinggi berudara sejuk. Kelebihan dari lengkung dataran rendah yaitu sifatnya berumur genjah, bibitnya pada umur 16 -20 bulan sudah mulai berbuah, buahnya eksotik berukuran jumbo. Selain kelebihan tersebut, lengkung dataran rendah khususnya varietas pingpong juga mempunyai kekurangan yakni bersifat dominansi pucuk (*apical dominance*), dimana pucuk cenderung tumbuh memanjang, meskipun karena itu dompolan buahnya lebat tetapi karena percabangannya sedikit, maka total buah pada satu pohon menjadi sedikit (Baroto, 2009).

Pohon lengkung dapat mencapai tinggi 40 m dan diameter batangnya hingga sekitar 1 m. Berdaun majemuk, dengan 2 – 4 (-6) pasang anak daun, sebagian besar berbulu rapat pada bagian aksialnya. Tangkai daun 1- 20 cm, tangkai anak daun 0,5 - 3,5 cm. Anak daun bulat memanjang, panjang lk. 1-5 kali lebarnya, bervariasi 3 - 4,5 × 1,5 - 20 cm, mengertas

sampai menjangat, dengan bulu-bulu kempa terutama di sebelah bawah di dekat pertulangan daun. Perbungaan umumnya di ujung dengan panjang 4 - 80 cm, lebat dengan bulu-bulu kempa, bentuk payung menggarpu. Mahkota bunga lima helai, panjang hingga 6 mm (Syariefa, 2004).

Lengkeng lebih cocok ditanam di dataran rendah antara 200 - 600 m dpl yang bertipe iklim basah dengan musim kering tidak lebih dari empat bulan. Air tanah antara 50 - 200 cm. Curah hujan 1.500 - 3.000 mm per tahun dengan 9 - 12 bulan basah dan 2 - 4 bulan kering. Sementara buah ini lebih suka pada daerah dataran tinggi antara 900 - 1.000 m dpl (Anonim, 2005b).

Lengkeng biasa diperbanyak dengan cara generatif maupun vegetatif. Secara generatif, lengkeng dapat diperoleh dengan mengecambahkan biji, sedangkan dengan vegetatif banyak cara dilakukan, antara lain dengan sambung pucuk, sambung masuk seperti pelana, tempel mata tunas atau okulasi, penyusuan, sehingga diperlukan batang atas yang biasanya mempunyai sifat unggul pada kualitas dan produksi buah, dan batang bawah yang umumnya menggunakan varietas lokal (Sunarto, 1990).

Menurut Sunarto (1995) berdasarkan tipe seksnya, lengkeng dapat digolongkan menjadi 4 jenis, yaitu :

1. Lengkeng yang mempunyai bunga jantan saja

Lengkeng jenis ini hanya mempunyai bunga yang mengandung benang sari saja (stamen) sebagai alat kelamin jantan, karena menghasilkan serbuk sari (pollen) yang mengandung inti sperma untuk keperluan penyerbukan.

2. Lengkeng yang mempunyai bunga betina saja

Lengkeng jenis ini hanya mempunyai bunga yang mengandung putik saja (pistillum) sebagai alat kelamin betina, karena mempunyai bakal buah (ovarium) yang berisi bakal biji (ovulum) serta mengandung sel telur (ovum).

3. Lengkeng yang mempunyai bunga jantan dan bunga betina

Lengkeng jenis ini pada satu pohon terdapat bunga jantan yang mengandung benang sari dan terdapat pula bunga betina yang mengandung putik.

4. Lengkeng hermaprodit

Lengkeng jenis ini mempunyai bunga yang mengandung banang sari dan putik secara bersamaan.

B. Kultur Jaringan

Menurut Cleandgreseach (2009) kultur jaringan bila diartikan ke dalam bahasa Jerman disebut *Gewebe kultur* atau *tissue culture* (Inggris) atau *weefsel kweek* atau *weefsel cultuur* (Belanda). Dasar teori yang digunakan adalah teori *totipotensi* yang menyatakan bahwa bagian tanaman yang hidup mempunyai *totipotensi*, kalau dibudidayakan di dalam media yang sesuai, akan dapat tumbuh dan berkembang menjadi tanaman yang sempurna, artinya dapat bereproduksi, berkembang biak secara normal melalui biji atau spora.

Kultur jaringan merupakan salah satu cara perbanyakan tanaman secara vegetatif. Kultur jaringan merupakan teknik perbanyakan tanaman dengan cara mengisolasi bagian tanaman seperti daun, mata tunas, serta menumbuhkan bagian-bagian tersebut dalam media buatan secara aseptik yang kaya nutrisi dan zat pengatur tumbuh dalam wadah tertutup yang tembus cahaya sehingga bagian tanaman dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman lengkap. Prinsip utama dari teknik kultur jaringan adalah perbayakan tanaman dengan menggunakan bagian vegetatif tanaman menggunakan media buatan yang dilakukan di tempat steril.

Metode kultur jaringan dikembangkan untuk membantu memperbanyak tanaman, khususnya untuk tanaman yang sulit dikembangbiakkan secara generatif. Bibit yang dihasilkan dari kultur jaringan mempunyai beberapa keunggulan, antara lain mempunyai sifat yang identik dengan induknya, dapat diperbanyak dalam jumlah yang besar sehingga tidak terlalu membutuhkan tempat yang luas, mampu menghasilkan bibit dengan jumlah besar dalam waktu yang singkat, kesehatan dan mutu bibit lebih

terjamin, kecepatan tumbuh bibit lebih cepat dibandingkan dengan perbanyakan konvensional. Tahapan yang dilakukan dalam perbanyakan tanaman dengan teknik kultur jaringan adalah: pembuatan media, inisiasi, sterilisasi, multiplikasi, pengakaran, aklimatisasi (Anonim, 2009).

Pembiakan mikro dapat dilakukan dengan beberapa cara. Perbanyakan tunas samping (*axilar branching*) dari ujung tunas atau stek satu buku, kemudian membentuk tunas-tunas majemuk, seperti pada pisang, vanili, nenas. Metode ini mengutamakan percabangan tunas samping yang pertumbuhannya dirangsang oleh ZPT sitokinin. Perbanyakan dengan metode tunas samping ini sering digunakan karena relatif sederhana, aberasi genetik sangat kecil, perbanyakannya berlangsung cepat, dan tanaman yang dihasilkan tumbuh dengan baik karena terjadinya rejuvenasi.

Selain percabangan tunas samping dikenal juga metode pembiakan dengan jalur *de novo* organogenesis. Eksplan akan berkembang menjadi tanaman lengkap jika dikulturkan pada medium yang sesuai. Pola perkembangannya bisa melalui cara:

1. Eksplan → organ → tanaman (organogenesis langsung)
2. Eksplan → kalus → organ → tanaman (organogenesis tidak langsung)

Dibandingkan dengan metode percabangan tunas samping, organogenesis merupakan metode yang sangat cepat untuk memperbanyak propagul. Namun, perbanyakan tunas dengan merangsang percabangan tunas samping lebih sering digunakan karena untuk mendapatkan tanaman yang *true to type* lebih tinggi dibandingkan dengan metode organogenesis (Yusnita, 2003).

Dibandingkan dengan perbanyakan tanaman secara konvensional, perbanyakan tanaman secara kultur jaringan mempunyai beberapa kelebihan yaitu:

1. Perbanyakan tanaman tertentu yang sulit atau sangat lambat diperbanyak secara konvensional. Perbanyakan tanaman secara kultur jaringan menawarkan peluang besar untuk menghasilkan jumlah bibit tanaman yang banyak dalam waktu relatif singkat sehingga lebih ekonomis.

2. Perbanyak tanaman secara kultur jaringan tidak memerlukan tempat yang luas.
3. Perbanyak tanaman secara kultur jaringan dapat dilakukan sepanjang tahun tanpa tergantung musim.
4. Memungkinkan dilakukannya manipulasi genetik.

Walaupun banyak kelebihan, teknik ini juga mempunyai beberapa kelemahan adalah:

1. Dibutuhkan investasi awal yang relatif tinggi untuk laboratorium dan bahan kimia.
2. Dibutuhkan keahlian khusus untuk melaksanakannya.
3. Tanaman yang dihasilkan berukuran kecil, aseptik, dan terbiasa hidup di tempat yang berkelembaban tinggi sehingga memerlukan aklimatisasi ke lingkungan eksternal.

(Luri, 2009).

C. Media Kultur Jaringan *Woody Plant Medium* (WPM)

Salah satu faktor paling penting yang berkaitan dengan pertumbuhan dan morfogenesis dari jaringan tanaman adalah komposisi dari media kultur. Sumber hara yang dibutuhkan oleh sel-sel tanaman yang dikulturkan adalah sama dengan yang dibutuhkan tanaman itu sendiri. Media dalam kultur jaringan tanaman umumnya terdiri dari komponen-komponen sebagai berikut: hara makro, hara mikro, vitamin, asam amino atau suplemen nitrogen lainnya, gula, bahan organik kompleks, bahan pematat (agar), dan zat pengatur tumbuh (Muslim, 2009).

Media tanam kultur jaringan terdiri dari dua jenis yaitu, media cair dan media padat. Media cair digunakan untuk menumbuhkan eksplan sampai terbentuk PLB (*protocorm like body*) yaitu eksplan yang akan tumbuh jaringan seperti kalus berwarna putih. Media padat digunakan untuk menumbuhkan PLB sampai terbentuk planlet (Rahardja dan Wahyu, 2003).

Media yang cocok untuk tanaman tahunan menurut Mariska dan Purnamaningsih (2001) adalah media WPM, hal ini disebabkan tanaman tahunan yang berkayu seperti tanaman lengkung sensitif terhadap media yang

kadar garamnya tinggi. Dengan media WPM maka diharapkan akan memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan media MS.

Media kultur yang memenuhi syarat adalah media yang mengandung nutrisi makro dan mikro dalam kadar dan perbandingan tertentu, serta sumber tenaga (umumnya digunakan sukrosa). Seringkali juga mengandung satu atau dua macam vitamin dan zat perangsang pertumbuhan. Kadang-kadang diperlukan penambahan zat lain seperti yeast, ekstrak malt, atau cairan tanaman sebagai sumber zat perangsang pertumbuhan lain yang belum diketahui. Serta ditambahkan satu atau lebih hormon tanaman untuk merangsang terjadinya pertumbuhan dan atau pengaturan jenis pertumbuhan. Akhirnya, perlu ditambah agar atau materi penyangga lain sehingga dapat terjadi kontak antara jaringan tanaman dengan media dan juga dengan udara (Whetherell, 1992).

Berbagai komposisi media kultur telah diformulasikan untuk mengoptimalkan pertumbuhan dan perkembangan tanaman yang dikulturkan. Contohnya komposisi Knudson C (1946), Heller (1953), Nitsch dan Nitsch (1972), Gamborg dkk. BS (1976), Linsmaier dan Skoog-LS (1965), Murashige dan Skoog-MS (1962) serta woody plant medium-WPM (Lloyd dan McCown, 1980). Komponen media kultur yang lengkap sebagai berikut :

1. Air distilata (akuades) atau air bebas ion sebagai pelarut atau solven
2. Hara-hara makro dan mikro.
3. Gula (umumnya sukrosa) sebagai sumber energi.
4. Vitamin, asam amino dan bahan organik lain.
5. Zat pengatur tumbuh.
6. Suplemen berupa bahan-bahan alami, jika diperlukan.
7. Agar-agar atau gelatin sebagai pematat media.

(Yusnita, 2004).

D. Zat Pengatur Tumbuh

Zat pengatur tumbuh (ZPT) adalah senyawa organik bukan nutrisi yang dalam konsentrasi rendah mampu mendorong, menghambat atau secara kuantitatif mengubah pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Moore, 1989

cit. Santoso dan Fatimah, 2003). Hal yang serupa dikemukakan oleh Hendaryono dan Wijayanti (1994) zat pengatur tumbuh (ZPT) pada tanaman adalah senyawa organik bukan hara, yang dalam jumlah sedikit dapat mendukung, menghambat dan dapat merubah proses fisiologi tumbuhan. Menurut Mulyani dan Candra (2006) penggunaan zat pengatur tumbuh yang tepat akan berpengaruh baik terhadap pertumbuhan tanaman namun bila dalam jumlah terlalu banyak justru akan merugikan tanaman karena akan meracuni tanaman tersebut, sebaliknya jika dalam jumlah yang sedikit maka akan berpengaruh terhadap pertumbuhan tanaman tersebut.

Zat pengatur tumbuh yang sekarang banyak dipakai dan memegang peranan penting dalam propagasi secara *in vitro* adalah auksin dan sitokinin (Wetherell, 1992 dan Yusnita, 2003). Auksin menurut Kusumo (1984) zat yang memiliki sifat khas, yaitu mendorong perpanjangan sel pucuk. Meskipun dapat mempengaruhi proses lain namun pengaruh utamanya adalah memperpanjang sel pucuk. Menurut Wetherell (1992), sitokinin mempunyai dua peranan penting yaitu dalam merangsang pembelahan sel dalam jaringan eksplan dan merangsang pertumbuhan tunas daun. Secara umum bahwa perbandingan sitokinin dan auksin yang tinggi baik untuk pembentukan tunas daun, sedangkan perbandingan yang rendah baik untuk pembentukan akar.

Auksin merupakan salah satu hormon tanaman yang dapat meregulasi banyak proses fisiologi, seperti pertumbuhan, pembelahan dan diferensiasi sel serta sintesa protein (Darnell, *et al.*, 1986). Auksin atau dikenal juga dengan IAA = Asam Indolasetat (yaitu sebagai auksin utama pada tanaman), dibiosintesis dari asam amino prekursor triptopan, dengan hasil perantara sejumlah substansi yang secara alami mirip auksin (analog) tetapi mempunyai aktifitas lebih kecil dari IAA seperti IAN = Indolaseto nitril, TpyA = Asam Indolpiruvat dan IAAlD = Indolasetatdehid. Proses biosintesis auksin dibantu oleh enzim IAA-oksidade (Gardner, *et al.*, 1991).

Sitokinin merupakan ZPT yang mendorong pembelahan (sitokinesis). Beberapa macam sitokinin merupakan sitokinin alami, misalnya kinetin, zeatin dan beberapa lainnya merupakan sitokinin sintetik. Sitokinin alami

dihasilkan pada jaringan yang tumbuh aktif terutama pada akar, embrio dan buah. Sitokinin yang diproduksi di akar selanjutnya diangkut oleh xilem menuju sel-sel target pada batang (Bioma, 2008). Sitokinin meningkatkan sitokinesis maupun pembesaran sel. Tetapi sitokinesis tidak meningkatkan pertumbuhan organnya sendiri, sebab sitokinesis hanya merupakan proses pembelahan saja. Oleh karena itu, keseluruhan pertumbuhan membutuhkan pemelaran sel dan pertumbuhan yang terpacu oleh sitokinin meliputi pembesaran sel yang lebih cepat dan produksi sel yang lebih banyak (Salisbury dan Ross, 1995).

Salah satu jenis ZPT dari golongan sitokinin yang sering dipakai dalam kultur jaringan yaitu 6-benzylaminopurine (BAP). Menurut George & Sherrington (1984) BAP merupakan salah satu sitokinin sintetik yang aktif dan daya merangsangnya lebih lama karena tidak mudah dirombak oleh enzim dalam tanaman, sedangkan menurut Noggle dan Fritz (1983) *cit.* Nursetiadi (2008) BAP memiliki struktur yang mirip dengan kinetin dan juga aktif dalam pertumbuhan dan poliferasi kalus sehingga BAP merupakan sitokinin yang paling aktif.

Kultur tunas pucuk pada medium MS, baik yang mengandung sitokinin (BAP) tunggal maupun kombinasi menunjukkan respon yang bervariasi. Walaupun konsentrasi BAP 2,0 mg/L paling aktif menginduksi tunas, tetapi kombinasi dari BAP (2 mg/L) dan IAA (0,5 mg/L) memberikan penggandaan tunas maksimum pada *Jatropha curcas* (Rajore dan Batra, 2005 *cit.* Nursetiadi, 2008). Menurut Nisa dan Rodinah (2005) keseimbangan antara konsentrasi BAP dan IAA sangat penting dalam menginduksi tunas pisang karena masing-masing zat pengatur tumbuh tersebut mempunyai peranan dalam menginduksi tunas.

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dimulai bulan Agustus 2009 sampai Januari 2010 di Laboratorium Fisiologi dan Bioteknologi Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta.

B. Bahan dan Alat Penelitian

1. Bahan Penelitian

- a. *Woody Plant Medium* (WPM) (Lampiran 1)
- b. BAP dan IAA
- c. Eksplan lengkung var. pingpong (*Dimocarpus longan* L.) berumur 2,5 tahun dari pucuk bibit sambung susu berupa buku tunggal (satu buku) (Lampiran 3)
- d. Alkohol
- e. Aquades
- f. Clorox 80% (sunclin)
- g. Sabun cuci
- h. Bakterisida (Agrept 20WP) dan Fungisida (Dithane 80WP)
- i. Amoxylin (500 mg)

2. Alat Penelitian

- | | |
|---|----------------------------|
| a. <i>Laminar Air Flow Cabinet</i> (LAFC) | j. Tissue |
| b. <i>Autoclave</i> | k. Kertas label |
| c. <i>Magnetic stirrer</i> | l. Rak kultur |
| d. Petridish | m. Hand sprayer |
| e. Labu takar | n. Plastik pp 0,4 mm |
| f. Pipet | o. Pinset besar dan kecil, |
| g. Timbangan analitik | p. Aluminium foil |
| h. Botol-botol kultur | q. Lemari pendingin |
| i. Karet gelang | r. Pisau <i>scalpel</i> |
| | s. Beker glass |

C. Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan lingkungan RAL (Rancangan Acak Lengkap) yang terdiri atas dua faktor perlakuan sebagai berikut :

a. Faktor pertama yaitu konsentrasi BAP dengan lima taraf konsentrasi, yaitu:

B0 : Perlakuan tanpa penambahan BAP

B1 : Perlakuan dengan penambahan BAP 0,5 ppm

B2 : Perlakuan dengan penambahan BAP 1,0 ppm

B3 : Perlakuan dengan penambahan BAP 2,0 ppm

B4 : Perlakuan dengan penambahan BAP 3,0 ppm

b. Faktor kedua yaitu konsentrasi IAA dengan lima taraf konsentrasi, yaitu :

A0 : Perlakuan tanpa penambahan IAA

A1 : Perlakuan dengan penambahan IAA 0,5 ppm

A2 : Perlakuan dengan penambahan IAA 1,0 ppm

A3 : Perlakuan dengan penambahan IAA 2,0 ppm

A4 : Perlakuan dengan penambahan IAA 3,0 ppm

Sehingga diperoleh 25 kombinasi perlakuan, kemudian masing-masing kombinasi diulang sebanyak tiga kali.

D. Pelaksanaan Penelitian

1. Sterilisasi Alat

Alat-alat yang harus disterilkan diantaranya adalah botol kultur, petridish, *scalpel*, pinset, dan pisau pemas. Alat-alat tersebut dicuci sampai bersih dengan menggunakan sabun cuci kemudian dikeringkan. Setelah kering dibungkus dengan kertas koran (kecuali botol kultur) lalu dimasukkan ke dalam autoklaf pada tekanan 1,5 Psi (kg/cm^2), pada suhu $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ selama 45 menit.

2. Pembuatan Larutan Stok

Pembuatan larutan stok yaitu dengan menimbang bahan-bahan kimia, hara makro, hara mikro, maupun ZPT sesuai komposisi media WPM untuk dibuat larutan stok. Kemudian bahan-bahan tersebut dilarutkan dengan aquades dan diaduk sampai homogen dengan *magnetic*

stirrer, kemudian dimasukkan dalam botol yang diberi label pada tiap botolnya sesuai dengan perlakuan dan disimpan dalam lemari pendingin.

Komposisi media WPM yang digunakan pada Lampiran 1.

3. Pembuatan Media Tanam

Pembuatan media dengan mengambil dan menakar masing-masing larutan stok sesuai dengan perlakuan dan ukuran yang telah ditentukan kemudian memasukkannya ke dalam gelas piala. Bahan-bahan tersebut dilarutkan dengan aquades sampai volume larutan mencapai 1 liter. Kemudian ditambahkan gula sebanyak 30 g. Larutan dimasukkan dalam beker glass dan diaduk serta dididihkan dengan menggunakan magnetik stirer dan hot plate.

Langkah selanjutnya yaitu pengukuran pH larutan yang diatur pada kisaran pH 6. Apabila pH terlalu rendah ditambahkan dengan NaOH dan bila pH terlalu tinggi ditambahkan dengan HCl. Setelah pH telah sesuai, maka pada larutan ditambahkan bahan pematat media yaitu agar-agar sebanyak 8 g. Setelah semua larutan terlarut, maka tahap selanjutnya adalah menuangkan larutan tersebut ke botol-botol kultur, kurang lebih 25 ml setiap botolnya. Botol ditutup dengan plastik pp dan kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C , pada tekanan $1,5\text{ kg/cm}^3$ selama 45 menit. Setelah selesai, botol diangkat dari autoklaf dan di tempatkan di ruang inkubasi agar media menjadi padat. Apabila media telah memadat, maka penanaman eksplan dapat dilakukan.

4. Persiapan Bahan Tanam (Eksplan)

Eksplan berasal dari bagian tunas pucuk lengkung dataran rendah (*D. longan*) var. pingpong berupa buku tunggal (Lampiran 3).

5. Sterilisasi Eksplan

• Di luar LAF

Sterilisasi eksplan dengan mencuci ekplan menggunakan sunlight hingga bersih, kemudian memasukkan dalam larutan aquadest 100 ml yang dicampur dengan amoxylin 500 g, fungisida dan bakterisida

masing-masing 1 g dengan cara menshaker selama 24 jam, kemudian mencuci dengan aquades steril sampai bersih.

- Di dalam LAF

Sebelum penanaman eksplan direndam dalam klorok 80% selama 20 detik.

6. Penanaman Eksplan

Penanaman eksplan dilakukan di dalam LAFC (*Laminar Air Flow Cabiner*) yang telah dibersihkan terlebih dahulu dengan alkohol 70 % dan ruang LAFC disemprot spirtus. Penanaman diawali dengan mendekatkan mulut botol kultur dengan lampu bunsen. Selama penanaman mulut botol kultur harus berada dekat dengan lampu bunsen guna mencegah kontaminasi.

Setelah 20 detik dalam larutan clorox 80%, dengan menggunakan pinset panjang yang telah direndam dalam alkohol dan dibakar diatas lampu bunsen, eksplan siap ditanam dalam botol baru dan kemudian ditutup kembali dengan plastik pp 0,4. Botol-botol yang telah selesai diberi label sesuai dengan perlakuan dan tanggal penanaman.

7. Pemeliharaan

Pemeliharaan dilakukan untuk meminimalisasi risiko kontaminasi dengan cara menyemprotkan spirtus ke botol-botol kultur setiap 2 hari sekali serta mengeluarkan botol-botol kultur yang terkontaminasi dari ruang inkubasi.

8. Subkultur

Perlakuan yang menghasilkan tunas di subkultur pada media WPM dengan penambahan BAP 2 ppm dan IAA 2 ppm. Subkultur dilakukan pada 105 HST dan pengamatannya pada 40 HST.

E. Variabel Pengamatan

1. Kalus

a. Persentase pembentukan kalus

Persentase pembentukan kalus dihitung pada akhir penelitian (90 HST), dengan perhitungan sebagai berikut :

$$\% \text{ pembentukan kalus} = \frac{\text{ulangantiapperlakuanyangtumbuhkalus}}{\text{totalulangantiapperlakuan}} \times 100\%$$

b. Warna kalus

Pengamatan warna kalus dilakukan secara visual pada akhir penelitian (90 HST). Kriteria penilaian yang digunakan adalah 0 = kalus tidak terbentuk, tetapi langsung tumbuh tunas, 1 = kalus tumbuh berwarna coklat, 2 = kalus tumbuh berwarna putih kecoklatan hingga kecoklatan.

c. Ukuran kalus

Pengamatan variabel ukuran kalus dilakukan pada akhir penelitian (90 HST) dan ditentukan secara kualitatif. Kriteria penilaian yang digunakan adalah 0 = kalus tidak terbentuk, tetapi langsung tumbuh tunas, 1 = kalus berukuran kecil, 2 = kalus berukuran sedang, 3 = kalus berukuran agak besar.

d. Tekstur kalus

Tekstur kalus diamati secara visual pada umur 90 HST. Kriteria penilaian yang digunakan adalah 0 = kalus tidak terbentuk, tetapi langsung tumbuh tunas, 1 = kalus tumbuh dengan tekstur kalus kompak, 2 = kalus tumbuh dengan tekstur kalus sedang (intermediet), 3 = kalus tumbuh dengan tekstur kalus *friabel* (remah) (Turhan, 2004 *cit.* Dwiyono, 2009).

Kalus *friabel* ditandai dengan adanya bagian-bagian penyusun kalus mudah dipisahkan satu sama lain, sedangkan kalus kompak menunjukkan bagian-bagian kalus yang menyatu, padat dan sulit dipisahkan. Untuk kalus dengan tekstur intermediet/sedang ditunjukkan

commit to user

oleh adanya bagian kalus yang bertekstur remah dan pada bagian yang lain bertekstur kompak/padat (Dwiyono, 2009).

2. Tunas

a. Persentase pembentukan tunas

Persentase jumlah tunas dihitung pada umur 90 HST, dengan perhitungan sebagai berikut :

$$\% \text{ pembentukan tunas} = \frac{\text{ulangantiapperlakuanyangtumbuhtunas}}{\text{totalulangantiapperlakuan}} \times 100\%$$

b. Jumlah tunas lateral yang terbentuk

Jumlah tunas diamati dengan menghitung jumlah tunas yang muncul pada umur 90 HST. Kemunculan tunas ditandai dengan adanya tonjolan kehijauan pada permukaan eksplan.

c. Panjang tunas

Panjang tunas diamati dengan mengukur tinggi tunas dari pangkal batang hingga ujung daun tertinggi (dalam mm) pada akhir pengamatan (90 HST)

d. Subkultur

Hasil dari subkultur diamati perkembangannya pada 40 HST.

F. Analisis Data

Data hasil penelitian yang diperoleh dianalisis secara deskriptif.

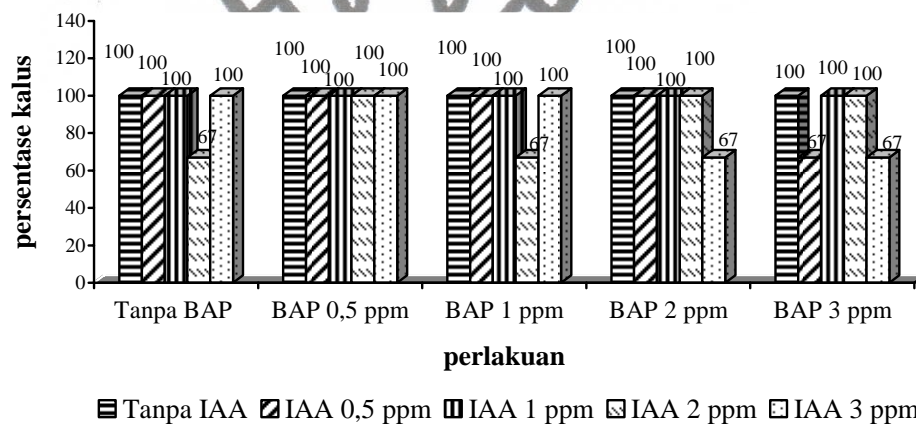
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Kalus

Salah satu tujuan kultur jaringan adalah untuk mengkondisikan eksplan yang dikulturkan agar dapat tumbuh sesuai arah yang diinginkan. Pada penelitian ini sebagian besar eksplan lengkung membentuk kalus terlebih dahulu sebelum berdiferensiasi membentuk tunas, akar atau daun hingga menjadi tanaman yang lengkap.

1. Persentase Pembentukan Kalus

Kalus merupakan suatu jaringan hidup hasil dari suatu pertumbuhan yang terdiri dari massa yang tidak teratur (Wetherel, 1982). Kalus yang dihasilkan secara *in vitro* sebagai akibat dari pelukaan pada permukaan eksplan dan respon terhadap hormon, baik itu endogen ataupun yang ditambahkan pada media. Kalus yang terbentuk pada 90 HST dihitung persentasenya. Hasil pengamatan terhadap persentase eksplan membentuk kalus pada 90 HST disajikan pada gambar 1.



Gambar 1. Persentase pembentukan kalus eksplan lengkung pada berbagai konsentrasi BAP dan IAA dengan media WPM

Gambar 1 menunjukkan bahwa kalus terinduksi pada semua perlakuan. Dari semua perlakuan sebagian besar mempunyai persentase pembentukan kalus 100%, persentase pembentukan kalus terendah 67 %

commit to user

hanya terdapat pada beberapa perlakuan. Dengan atau tanpa penambahan BAP serta IAA, eksplan lengkung mampu menumbuhkan kalus walaupun dengan persentase yang berbeda-beda. Eksplan sudah terkandung ZPT endogen dimana tanpa penambahan zat pengatur tumbuh dari luar ZPT tersebut sudah mampu berperan dalam induksi kalus walaupun pertumbuhannya lambat. Pertumbuhan kalus yang lambat ini dapat dilihat dari ukuran dan tekstur kalus yang terbentuk. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Gunawan (1987), bahwa kalus dapat terbentuk pada eksplan-eksplan yang berkambium, meskipun medium yang dipergunakan tidak disuplementasi ZPT sama sekali.

2. Warna Kalus

Warna kalus menggambarkan penampilan visual kalus yang penting untuk diteliti. Berdasarkan warna kalus dapat diketahui apakah suatu kalus masih memiliki sel-sel yang aktif membelah atau dalam arti kata masih hidup ataukah telah mati. Warna coklat hingga hitam pada eksplan mahkota dewa secara umum menunjukkan keadaan kalus yang sel-selnya telah mati (Dwiyono, 2009). Kriteria penilaian warna kalus disajikan pada Gambar 2.



1 = kalus warna coklat



2 = kalus putih kecoklatan hingga kecoklatan

Gambar 2. Kriteria penilaian berdasarkan warna kalus lengkung pada umur 90 HST pada media WPM dengan penambahan BAP dan IAA

Tabel 1. Warna kalus eksplan lengkung karena pengaruh penambahan BAP dan IAA pada media WPM terhadap secara *in vitro*

IAA(ppm) \ BAP (ppm)	Tanpa	0,5	1	2	3
Tanpa	1	1	1	1	2
0,5	1	1	2	2	2
1	1	1	2	2	1
2	1	1	1	1	1
3	1	1	1	1	2

Keterangan : 1 = coklat, 2 = putih kecoklatan hingga kecoklatan

Tabel 1 menyajikan warna yang terlihat pada kalus-kalus eksplan lengkung yang hanya memiliki rentang warna coklat (ditunjukkan nilai 1) sampai putih kecoklatan hingga kecoklatan (ditunjukkan nilai 2). Warna kalus yang dihasilkan sebagian besar adalah coklat. Penambahan BAP dan IAA yang semakin tinggi dapat menyebabkan peningkatan terbentuknya kalus dengan warna coklat. Warna coklat yang terjadi pada kalus menunjukkan terjadinya nekrosis pada sel-sel kalus eksplan lengkung akibat penambahan zat pengatur tumbuh dengan konsentrasi yang terlalu tinggi. Vickery & Vickery (1980) *cit.* Nisa dan Rodinah (2005) menyatakan bahwa sintesis senyawa fenolik dipacu oleh cekaman atau gangguan pada sel tanaman yang cukup cepat. Fitriani (2003) *cit.* Nisa dan Rodinah (2005), juga mendapatkan bahwa warna coklat kalus *Musa paradisiaca* L. menandakan sintesis senyawa fenolik. Dalam penelitian tersebut, sel mengalami cekaman luka pada jaringan.

Kalus yang tumbuh dengan warna putih kecoklatan hingga kecoklatan terbentuk pada beberapa perlakuan saja. Peningkatan konsentrasi BAP dari 0,5 ppm hingga 1 ppm serta IAA dari 1 ppm hingga 2 ppm cenderung memberikan warna kalus yang putih kecoklatan hingga kecoklatan. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi BAP dan IAA cenderung memberikan warna kalus yang semakin putih kecoklatan. Tetapi pada perlakuan BAP 3 ppm dan IAA 3 ppm menunjukkan warna kalus yang putih kecoklatan hingga kecoklatan.

Pada penelitian ini tidak dihasilkan warna kalus yang putih maupun kehijauan. Sesuai yang diungkapkan oleh George dan Sherrington (1984), ketersediaan cahaya pada induksi kalus akan mempengaruhi warna kalus yang terjadi. Kondisi terang (tanpa kondisi gelap) akan memacu terbentuknya klorofil pada kalus, sehingga kalus cenderung berwarna hijau. Walaupun kondisi terang dapat mendorong terbentuknya warna hijau pada kalus, tetapi juga berpengaruh negatif terhadap pertumbuhan kalus. Kondisi terang dapat meningkatkan metabolisme senyawa-senyawa fenolik dan sebagai akibatnya warna hijau yang terekspresi karena adanya klorofil menjadi terhambat.

3. Ukuran Kalus

Katuuk (1989), menyatakan bahwa dalam kultur jaringan, kalus terbentuk disebabkan oleh luka atau irisan eksplan sebagai respon terhadap hormon baik eksogen maupun endogen. Rangsangan luka tersebut menyebabkan kesetimbangan pada dinding sel berubah arah, sebagian protoplas mengalir ke luar sehingga mulai terbentuk kalus. Ukuran kalus sangat berkorelasi dengan lama induksi kalus, semakin lama waktu induksi kalus maka ukuran kalus pun juga semakin besar begitu sebaliknya. Ukuran kalus juga dapat dipergunakan untuk mengetahui apakah konsentrasi BAP dan IAA eksogen yang diberikan mampu atau tidak dalam menstimulasi pembelahan sel pada eksplan. Perlakuan dengan konsentrasi BAP dan IAA yang tepat akan memberikan ukuran kalus yang maksimal. Penilaian ukuran kalus berdasarkan kriteria disajikan pada Gambar 3.



1 = kalus berukuran kecil



2 = kalus berukuran sedang



3 = kalus berukuran agak besar

Gambar 3. Kriteria penilaian berdasarkan ukuran kalus lengkung pada umur 90 HST pada media WPM dengan penambahan BAP dan IAA

Tabel 2. Ukuran kalus eksplan lengkung karena pengaruh penambahan BAP dan IAA pada media WPM terhadap secara *in vitro*

IAA (ppm) \ BAP (ppm)	Tanpa	0,5	1	2	3
Tanpa	2	2	2	1	2
0,5	2	2	2	3	2
1	1	2	2	2	2
2	2	2	2	2	2
3	1	2	2	2	2

Keterangan : 1 = kecil, 2 = sedang, 3 = agak besar

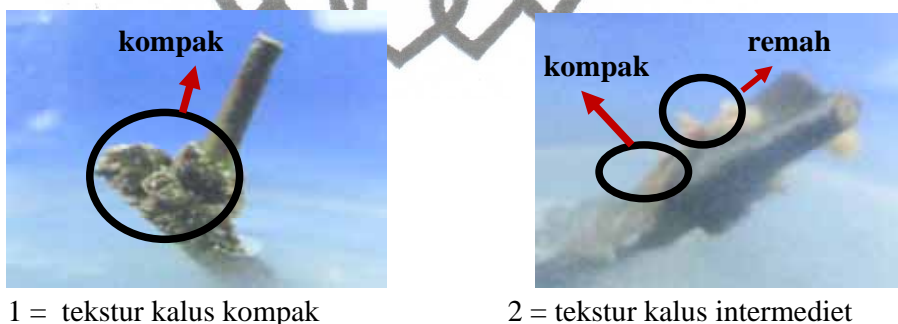
Tabel 2 menunjukkan ukuran kalus eksplan lengkung yang diamati pada akhir penelitian (90 HST). Ukuran kalus yang terbentuk ini dapat dijadikan sebagai sumber propagul secara terus-menerus dalam perbanyakan *in vitro*. Semakin besar ukuran kalus maka semakin banyak sumber propagul yang akan berdiferensiasi membentuk tunas ataupun organ tanaman yang lain.

Ukuran kalus hanya pada skala kecil (ditunjukkan dengan nilai 1) sampai dengan agak besar (ditunjukkan dengan nilai 3). Ukuran kalus terbesar ditunjukkan pada perlakuan BAP 2 ppm dan IAA 0,5 ppm. Untuk ukuran kalus kecil dengan nilai skoring 1 ditunjukkan pada kombinasi perlakuan BAP 1 ppm, BAP 3 ppm, dan IAA 2 ppm. Ukuran kalus sedang (ditunjukkan dengan nilai 2) terbentuk pada kombinasi perlakuan yang lain. Lengkeng yang merupakan tanaman dikotil membutuhkan waktu lama dalam menginduksi kalus sehingga kalus yang terbentuk hanya sampai dengan skala agak besar. Hal ini bertolak belakang dengan yang diungkapkan oleh Geier (1986), umumnya induksi kalus pada kelompok monokotil membutuhkan waktu yang cukup lama. Hal yang sama terjadi pada keladi tikus yang merupakan tanaman dari kelompok monokotil yang membutuhkan waktu yang lama untuk proses induksi kalusnya, sekitar delapan sampai sepuluh minggu (Syahid dan Kristina, 2007). Selain itu, diduga pembentukan dan pertumbuhan kalus pada eksplan lengkung hanya

dipengaruhi oleh kandungan auksin endogen saja, sehingga pemberian BAP dan IAA tidak dapat memacu pertumbuhan eksplan.

4. Tekstur Kalus

Beberapa kalus ada yang mengalami pembentukan lignifikasi sehingga kalus tersebut mempunyai tekstur yang keras dan kompak. Namun ada kalus yang tumbuh terpisah-pisah menjadi fragmen-fragmen yang kecil, kalus yang demikian dikenal dengan kalus remah (*friable*) (Luri, 2009). Kalus yang baik diasumsikan memiliki tekstur remah (*friable*). Tekstur kalus yang remah dianggap baik karena memudahkan dalam pemisahan menjadi sel-sel tunggal pada kultur suspensi, di samping itu akan meningkatkan aerasi oksigen antar sel. Dengan demikian, dengan tekstur tersebut upaya untuk perbanyakan dalam hal jumlah kalus yaitu melalui kultur suspensi lebih mudah. Tekstur kalus dapat dibedakan menjadi tiga macam, yaitu : kompak, intermediet dan remah (*friable*) (Turhan, 2004). Penilaian tekstur kalus berdasarkan kriteria disajikan pada Gambar 4.



1 = tekstur kalus kompak

2 = tekstur kalus intermediet

Gambar 4. Kriteria penilaian berdasarkan tekstur kalus lengkung pada umur 90 HST pada media WPM dengan penambahan BAP dan IAA

Tabel 3. Tekstur kalus eksplan lengkung karena pengaruh penambahan BAP dan IAA pada media WPM terhadap secara *in vitro*

IAA (ppm) \ BAP (ppm)	Tanpa	0,5	1	2	3
Tanpa	1	1	1	1	1
0,5	1	1	1	1	1
1	1	1	1	1	1
2	1	1	1	1	1
3	1	1	1	1	2

Keterangan : 1 = kompak, 2 = sedang (intermediet)

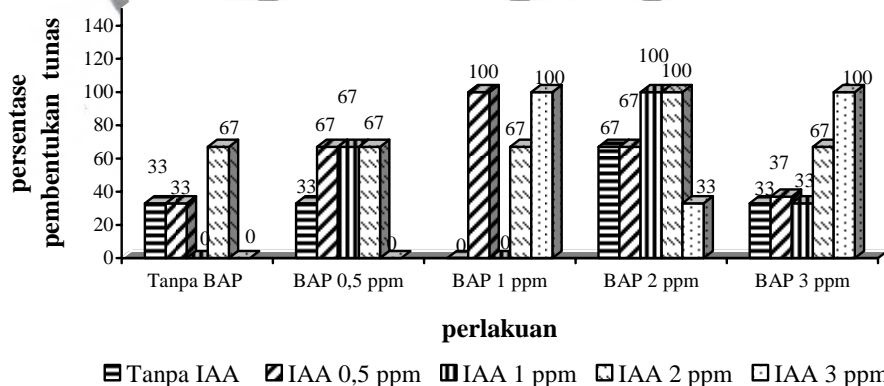
Hasil pengamatan tekstur kalus disajikan pada tabel 3. Pada semua perlakuan dapat menumbuhkan kalus. Kalus yang dihasilkan pada tahap induksi kalus lengkung menggunakan BAP dan IAA, sebagian besar dari semua perlakuan memunculkan kalus yang bertekstur kompak. Hanya pada perlakuan BAP 3 ppm dan IAA 3 ppm memperlihatkan kalus yang bertekstur intermediet tetapi ukuran kalus yang terbentuk pada perlakuan ini juga sedang (tabel 2). Hal ini berbeda dengan pernyataan Akeneme dan Eneobong (2008) bahwa sel-sel yang mengalami pembelahan yang begitu cepat akan membentuk kalus dengan tekstur yang remah. Pembelahan sel-sel yang berlangsung begitu cepat tersebut cenderung mengarahkan sel-sel membentuk kalus dengan susunan yang agak renggang dan agak saling lepas satu sama lain. Hal ini diduga karena pengaruh dari umur bahan eksplan yang digunakan pada awal pengkulturan. Menurut Yusnita (2003) eksplan yang diambil dari tanaman induk yang sudah dewasa atau sudah mampu berbunga, eksplan tersebut umumnya lebih sulit beregenerasi dibandingkan dengan tanaman induk yang masih juvenil, walaupun secara fisiologi jaringannya sama-sama masih muda. Pierik (1997), juga mengemukakan tiga aspek utama yang harus diperhatikan dalam seleksi bahan eksplan, yaitu genotip, umur, dan kondisi fisiologis bahan tersebut.

B. Tunas

Kalus yang dihasilkan dari induksi kalus eksplan lengkung sebagian besar berdiferensiasi membentuk tunas. Dalam penelitian kalus yang terbentuk tidak dapat berdiferensiasi menjadi tunas maupun akar. Tunas yang terbentuk umumnya berasal dari tunas lateral yang *true to type* dimana tunas yang terbentuk dari mata tunas yang sudah ada pada eksplan sehingga kemungkinan terjadinya aberasi genetic kecil. Kemunculan tunas ini menunjukkan sebagai keberhasilan regenerasi eksplan yang diinokulasi melalui teknik kultur jaringan.

1. Persentase Pembentukan Tunas Lateral

Tunas merupakan bagian tanaman yang diperoleh dari cara perbanyakan vegetatif, yang tumbuh dalam rangka melangsungkan keturunan pada tanaman tersebut. Persentase pembentukan tunas lengkung pada 90 HST disajikan pada gambar 5.



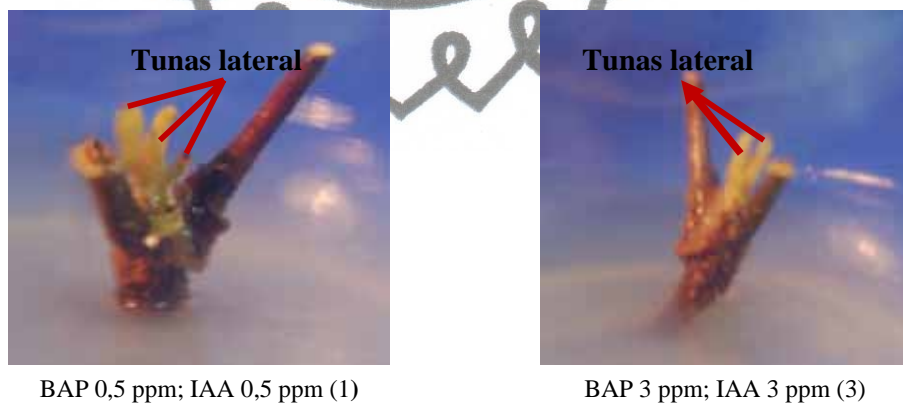
Gambar 5. Persentase tunas lateral eksplan lengkung pada berbagai konsentrasi BAP dan IAA dengan media WPM

Pada penelitian tidak semua perlakuan memunculkan tunas. Gambar 5 menunjukkan bahwa persentase pembentukan tunas pada setiap penambahan BAP tidak beraturan. Konsentrasi IAA 0,5 ppm dengan peningkatan konsentrasi BAP hingga 1 ppm diperoleh persentase kemunculan tunas yang optimal dan semakin menurun pada peningkatan konsentrasi BAP hingga 3 ppm. Hal ini menunjukkan penambahan

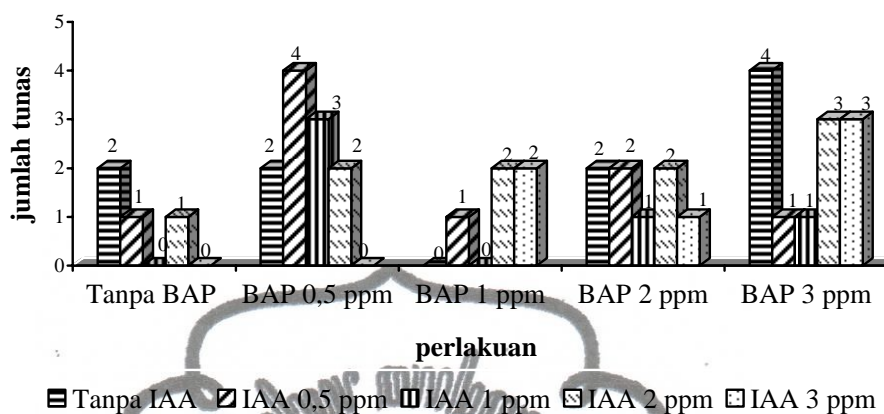
konsentrasi BAP 1 ppm dan IAA 0,5 ppm mampu menginduksi tunas eksplan lengkung. Menurut Kusumo (1984), zat pengatur tumbuh sitokinin berperan dalam pembelahan sel dan morfogenesis, sedang auksin berperan dalam mengatur pertumbuhan dan pemanjangan sel. Pemanjangan sel, pembelahan sel, morfogenesis dan pengaturan pertumbuhan merupakan proses yang sangat penting dalam pembentukan kalus dan selanjutnya diikuti pembentukan tunas. Hal ini menunjukkan bahwa sitokinin (termasuk BAP) dan auksin (termasuk IAA) berperan saling melengkapi dalam menginduksi tunas.

2. Jumlah Tunas

Terbentuknya tunas pada suatu eksplan merupakan salah satu keberhasilan melalui teknik kultur jaringan. Semakin tinggi tingkat multiplikasinya maka semakin banyak tunas yang terbentuk maka. Jumlah tunas eksplan lengkung pada berbagai konsentrasi BAP dan IAA disajikan pada gambar 6.



Gambar 6. Jumlah tunas lateral eksplan lengkung saat 90 HST



Gambar 7. Jumlah tunas lateral eksplan lengkung pada berbagai konsentrasi BAP dan IAA dengan media WPM

Gambar 7 menunjukkan jumlah tunas terbanyak pada perlakuan BAP 0,5 ppm dan IAA 0,5 ppm yaitu 4. Hal ini berarti kombinasi 0,5 ppm BAP dan 0,5 ppm IAA merupakan keseimbangan yang tepat untuk menginduksi tunas lengkung. Penelitian yang dilakukan Maryani dan Zamroni (2005) terhadap krisan pada media MS dengan penambahan ZPT yang serupa menunjukkan bahwa pemberian BAP 1 ppm dan IAA 1 ppm menghasilkan penggandaan tunas krisan terbaik. Walaupun pada jenis media yang berbeda tetapi kedua kondisi ini sesuai dengan yang diungkapkan oleh George dan Sherrington (1984) bahwa perimbangan konsentrasi sitokinin dan auksin yang tepat mampu memperbaiki penggandaan tunas. Pada perlakuan BAP 3 ppm tanpa penambahan IAA juga menghasilkan jumlah tunas yang sama. Pada kondisi tertentu sitokinin dengan konsentrasi yang lebih tinggi daripada auksin akan memacu pada pembentukan tunas.

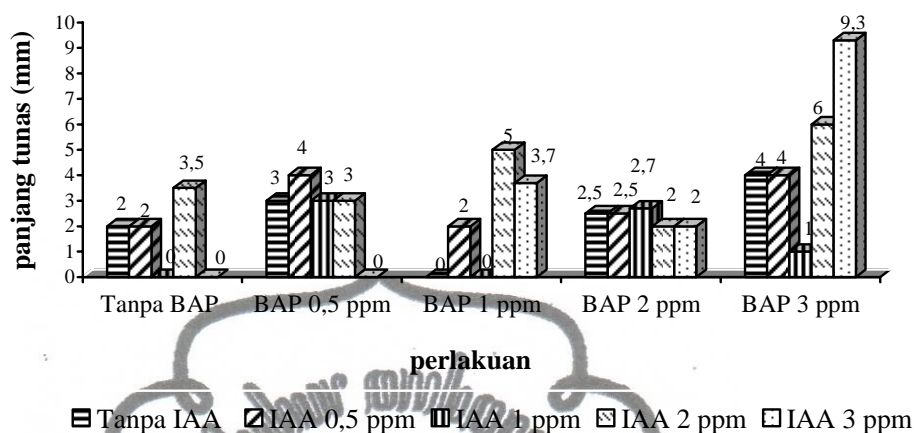
Pada penelitian ini tidak semua perlakuan memunculkan tunas. Hal ini diduga karena pengaruh dari umur fisiologi eksplan yang digunakan. Eksplan lengkung yang digunakan yaitu 2,5 tahun (dewasa) yang berasal dari sambung susu sehingga kemampuan untuk membentuk kalus maupun tunas sangat lambat walaupun sudah diberi zat pengatur tumbuh eksogen.

Hal berbeda ditemui pada eksplan lengkung berasal dari biji yang berumur 1 tahun, dengan penambahan zat pengatur tumbuh IAA saja pada media WPM sudah mampu menumbuhkan rata-rata jumlah tunas tertinggi yaitu 0,98 (Arniputri dan Pratiwi, 2006). Selain itu posisi dalam pengambilan eksplan juga harus diseragamkan supaya zat pengatur tumbuh endogen pada masing-masing eksplan juga sama. Meskipun dalam eksplan juga terdapat senyawa endogen namun senyawa yang terdapat dalam eksplan belum mampu merangsang pembentukan kalus maupun tunas.

Pengaruh ZPT terhadap kemampuan regenerasi sangat kompleks dan berkaitan dengan kondisi fisiologi dari tanaman *in vivo*. Keseimbangan antara auksin dan sitokinin juga sangat diperlukan untuk memperoleh hasil yang optimal bagi pembentukan tunas dan akar. Oleh sebab itu untuk memperoleh hasil yang optimal pada kultur tunas lengkung, perlu dicari kondisi terbaik bagi pertumbuhannya, antara lain penggunaan jenis eksplan, media, dan keseimbangan ZPT yang tepat.

3. Panjang tunas

Panjang tunas merupakan salah satu indikator yang penting untuk diamati. Dengan adanya panjang tunas maka dapat diketahui pengaruh BAP dan IAA yang digunakan dalam pertumbuhan organ suatu eksplan. Pengamatan panjang tunas diamati pada 90 HST. Rata-rata panjang tunas lengkung yang berasal dari tunas lateral pada berbagai konsentrasi BAP dan IAA disajikan pada gambar 8.



Gambar 8. Rata-rata panjang tunas lateral-eksplan lengkung pada berbagai konsentrasi BAP dan IAA dengan media WPM

Gambar 8 menunjukkan bahwa pemberian BAP 3 ppm dan IAA 3 ppm menghasilkan rata-rata panjang tunas yang optimal sebesar 9,3 mm. Pemberian BAP yang dikombinasikan dengan IAA, menghasilkan tunas yang lebih cepat perpanjangannya walaupun jumlahnya lebih sedikit dibandingkan dengan yang diberi BAP saja tanpa penambahan IAA dan perlakuan yang penggunaan konsentrasi BAP dan IAA-nya lebih rendah. Hal ini menunjukkan bahwa keseimbangan antara sitokinin (BAP) dan auksin (IAA) sangat diperlukan untuk memperoleh hasil yang optimal bagi penggandaan dan perpanjangan tunas.



BAP 3 ppm; IAA 3 ppm (1)



BAP 1 ppm; IAA 3 ppm (1)

Gambar 9. Panjang tunas eksplan lengkung pada umur 90 HST

C. Subkultur

Tunas terbanyak dan terpanjang yang diperoleh dari hasil penelitian pada tahap selanjutnya perlu disubkultur ke media dengan kadar BAP yang lebih rendah agar mempercepat munculnya tunas baru serta dikombinasikan dengan IAA dengan konsentrasi rendah untuk merangsang pembentukan akar. Hasil eksplan yang disubkultur pada pada 40 HST disajikan pada gambar 9.



BAP 3 ppm; IAA 3 ppm (1)
(sebelum subkultur)

BAP 3 ppm; IAA 3 ppm (1)
(sesudah subkultur)

Gambar 10. Perbandingan eksplan lengkung sebelum dan sesudah disubkultur selama 40 HST

Setelah 40 HST eksplan lengkung yang telah di subkultur pada media WPM dengan penambahan BAP 2 ppm dan 2 IAA ppm tidak menunjukkan peningkatan pertumbuhan. Hal ini diduga karena adanya penambahan auksin dengan konsentrasi yang hampir sama dengan sitokinin akan menghambat pertumbuhan eksplan yang di sub kultur. Menurut Gardner, *et al.*, (1991) bahwa pemanjangan akar dirangsang oleh auksin yang konsentrasinya sangat rendah.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Pada perlakuan tanpa maupun dengan penambahan BAP dan IAA eksplan lengkung mampu menumbuhkan kalus dengan pertumbuhan yang lambat dan belum mampu berdiferensiasi membentuk tunas.
2. Tunas yang terbentuk pada 90 HST berasal dari tunas lateral, dimana perlakuan BAP 3 ppm dan IAA 3 ppm menghasilkan panjang tunas yang maksimal yaitu sebesar 9,3 mm.
3. Konsentrasi BAP 0,5 ppm dan IAA 0,5 ppm merupakan keseimbangan konsentrasi yang paling optimal untuk pengandaan jumlah tunas yaitu sebanyak 4.

B. Saran

1. Pembentukan tunas lengkung secara *in vitro* dapat mempergunakan jenis eksplan dari sambung susu dengan umur yang lebih muda pada media WPM yang disuplementasikan dengan BAP 0,5 ppm dan IAA 0,5 ppm, yang selanjutnya disubkultur dengan media yang mengandung konsentrasi BAP yang lebih tinggi daripada IAA.
2. Perlu penelitian lebih lanjut menggunakan perlakuan macam urutan nodus pada tanaman yang umurnya sama untuk mendapatkan nodus yang tepat pada multiplikasi tunas.