

**KAJIAN KONSENTRASI IBA TERHADAP PERTUMBUHAN EKSPAN  
KOTILEDON DAN PUCUK TANAMAN PRANAJIWA (*Sterculia foetida* L.)  
SECARA *IN VITRO***



**Diajukan Oleh :**  
**SETYAWATI GITA PUSPITA**  
**H0105028**

**FAKULTAS PERTANIAN**  
**UNIVERSITAS SEBELAS MARET**  
**SURAKARTA**

**2009**

## I. PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Energi merupakan bagian dari hidup manusia dan makhluk hidup pada umumnya. Kebutuhan energi semakin meningkat seiring dengan peningkatan jumlah penduduk dan kebutuhan manusia. Peningkatan kebutuhan energi jika tidak diimbangi dengan peningkatan sumber energi yang ada di alam maka akan mengakibatkan kelangkaan. Oleh karena itu, perlu adanya sumber energi baru sehingga dapat menciptakan energi alternatif yang berasal dari lingkungan hayati atau nabati atau tanaman.

Pranajiwa (*Sterculia foetida* L.) merupakan salah satu tanaman yang dapat dikembangkan sebagai bahan baku *biofuel* (*bio-etanol*, *bio-diessel* dan *bio-oil*) dan dapat dijadikan alternatif BBN (Bahan Bakar Nabati). Yuniastuti (2008) mengatakan bahwa BBN adalah suatu metode atau cara budidaya dan pengembangan tanaman yang diambil manfaatnya melalui komponen pada tanaman dan dimanfaatkan sebagai *biofuel*.

Biji pranajiwa mengandung cukup besar minyak nabati yang terdiri dari asam lemak, yaitu asam sterkulat. Yuniastuti (2008) menambahkan bahwa asam minyak pranajiwa juga dapat digunakan sebagai zat adaptif *biofuel* yang memiliki titik tuang  $18^{\circ}\text{C}$  menjadi  $11,25^{\circ}\text{C}$ . Titik tuang merupakan temperatur terendah dimana fase uap mulai terbentuk dan mulai terbakar (Noezar, 2007). Titik Tuang adalah suatu angka yang menyatakan suhu terendah dari bahan bakar minyak sehingga minyak tersebut masih dapat mengalir karena gravitasi (Anonim<sup>c</sup>, 2009). Selain itu, pranajiwa juga berfungsi sebagai *bio-diessel*. Menurut Anggraini (2005), *bio-diessel* adalah bahan bakar untuk mesin diesel yang dibuat dari sumber daya hayati.

Keberadaan tanaman pranajiwa sangat langka karena jarang ditemukan ditempat umum dan biasanya tanaman ini ditemukan di pemakaman dan sering disebut tanaman genderuwo (Yuniastuti, 2008). Di Indonesia belum pernah dijumpai budidaya pranajiwa secara intensif dan hanya ditemukan di daerah pemakaman (Anonim<sup>a</sup>, 2008). Melihat potensi yang ada pada tanaman

pranajiwa perlu adanya teknik budidaya yang sesuai untuk pertumbuhan dan perkembangannya agar tanaman ini tidak mengalami kepunahan.

Tanaman pranajiwa dapat dikembangbiakkan secara generatif dan vegetatif. Perkembangbiakan generatif merupakan cara perbanyak tanaman menggunakan biji, salah satu kelemahannya adalah dapat terjadi segregasi yang mengakibatkan perubahan sifat anakan. Sedangkan perkembangbiakan vegetatif merupakan perbanyak tanaman menggunakan bagian tanaman, dapat berupa batang, pucuk, daun, akar, nodus, dan bagian tanaman lainnya. Salah satu perkembangbiakan vegetatif adalah kultur *in vitro*. Menurut Pierik (1987), teknik kultur *in vitro* didefinisikan sebagai suatu teknik mengisolasi bagian-bagian tanaman seperti organ, jaringan, kumpulan sel, sel tunggal, dan protoplasma secara aseptik dan menumbuhkan bagian-bagian tersebut dalam media tumbuh sintetik yang kaya nutrisi serta mengandung zat pengatur tumbuh.

Manfaat utama perbanyak tanaman secara kultur *in vitro* adalah untuk organogenesis dan embriogenesis. Organogenesis mengarah pada multiplikasi, induksi, dan perbenyakan tunas maupun organ tanaman lain. Sedangkan embriogenesis mengarah pada *seed sintetic* dan pembentukan kalus untuk diambil metabolit sekundernya. Beberapa manfaat lainnya adalah perbanyak klon atau perbanyak massal dari tanaman yang sifat genetiknya identik satu sama lain untuk memperbanyak tanaman introduksi, tanaman klon unggul baru, dan tanaman bebas patogen yang perlu diperbanyak dalam jumlah besar dalam waktu singkat, menyeleksi tanaman, menyediakan stok tanaman mikro, mengkondisikan lingkungan agar terkendali (Zulkarnain, 2009).

Eksplan yang digunakan dipilih bagian yang masih muda dan mudah tumbuh yaitu bagian meristem. Pada penelitian ini eksplan yang digunakan terdiri atas kotiledon dan pucuk tanaman. Kotiledon berasal dari biji yang dikecambahkan dalam lingkungan yang steril. Untuk media kultur menggunakan media *Woody Plant Medium* (WPM). Formulasi media WPM ini cocok dan optimal untuk kultur jaringan tanaman berkayu (Kyte and

Kleyn, 1996), karena unsur makro yang terdapat pada media WPM misalnya magnesium, dapat mendukung pertumbuhan jaringan tanaman (Pardal, 2004 *cit.* Nursetiadi, 2008). Zat pengatur tumbuh yang ditambahkan dalam media yaitu IBA yang berasal dari golongan auksin. Auksin adalah salah satu zat pengatur tumbuh yang mempunyai peranan dalam proses pemanjangan sel, pembelahan sel, dan pembentukan akar adventif (Pierik, 1987). Sitokinin juga ditambahkan dalam setiap perlakuan dengan konsentrasi yang sama. Pemberian sitokinin dimaksudkan untuk menyeimbangkan kerja auksin dalam pertumbuhan eksplan dan dapat mempercepat pertumbuhan tunas yang akan dihasilkan. Melalui penggunaan beberapa konsentrasi IBA ini akan diketahui pada konsentrasi berapa pertumbuhan tunas tanaman pranajawa paling baik.

## **B. Perumusan Masalah**

Pemilihan eksplan sebagai bahan tanam untuk budidaya tanaman secara *in vitro* sangat penting. Eksplan diperoleh dari bagian tubuh atau jaringan tanaman yang masih mengalami diferensiasi artinya jaringan tanaman masih aktif membelah membentuk akar, batang, atau kalus. Terbentuknya bagian-bagian tanaman dipengaruhi oleh adanya zat pengatur tumbuh dalam media tanam karena ZPT yang terdapat alami dalam eksplan belum cukup untuk membantu pembelahan dan diferensiasi sel.

Selain media kultur, ZPT juga sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksplan. ZPT yang ditambahkan adalah auksin dan sitokinin. Pada penelitian ini menggunakan IBA dan BAP. Adapun permasalahan yang ingin diketahui dari penelitian ini adalah macam eksplan yang baik untuk digunakan dalam kultur *in vitro* pranajawa dan berapa konsentrasi IBA yang sesuai terhadap pertumbuhan eksplan tanaman pranajawa.

## **C. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan konsentrasi IBA yang tepat pada eksplan kotiledon dan pucuk tanaman terhadap pertumbuhan eksplan tanaman pranajawa (*S. foetida* L.) secara *in vitro*.

**D. Hipotesis**

Konsentrasi IBA sebesar 1 ppm pada eksplan pucuk tanaman dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman pranajiwa (*S. foetida* L.) secara *in vitro*.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. Biologi Tanaman Pranajiwa (*Sterculia foetida* Linn.)

Diskripsi tiap tanaman apabila hanya didasarkan pada penampilan fenotipe saja maka memberikan hasil yang berbeda-beda. Perbedaan tersebut bisa disebabkan perbedaan lingkungan tumbuhnya. Penampilan fenotipe dipengaruhi oleh faktor genetik dan lingkungan serta interaksi antara genetik dan lingkungan. Sedangkan identifikasi morfologi tanaman pranjiwa telah dilakukan pada 10 kabupaten di Jawa Tengah secara garis besar tanaman pranjiwa yang ditemukan dapat digolongkan menjadi 2 jenis yaitu berbuah besar dan berbuah kecil. Pengelompokkan biji berdasarkan berat rata-rata 10 biji tua antara 1,5 gram – 2,0 gram (biji besar) dan 1,0 gram – 1,5 gram (biji kecil). Hasil pengamatan menjelaskan bahwa bunga muncul pada cabang terakhir atau anak cabang ke-4 hingga ke-6. Begitu pula dengan daun, dimana daun juga muncul pada anak cabang ke-4 hingga ke-6. Selain itu, persentase fruit-set tanaman pranjiwa cukup rendah, karena dalam 1 tangkai bunga yang berisi antara 20 - 30 bunga hanya 1 – 2 bunga yang jadi buah (Yuniastuti, 2008). Adapun taksonomi tanaman ini sebagai berikut :

Kingdom : Plantae  
Subkingdom : Tracheobionta  
Divisi : Magnoliophyta  
Kelas : Magnoliopsida  
Subkelas : Dilleniidae  
Ordo : Malvales  
Famili : Sterculiaceae  
Genus : *Sterculia*  
Spesies : *Sterculia foetida* L.

(Anonim<sup>b</sup>, 2008).

*S. foetida* L. banyak tumbuh di Afrika tropis, Madagaskar, Malaysia, dan Australia bagian utara serta India (D'silva, 2008). Tanaman ini banyak tumbuh di banyak pulau dan propinsi disepanjang pantai dan hutan semi terbuka pada dataran rendah hingga medium (*World Agroforestry Centre*, 2008).

Menurut Yuniastuti (2008) tanaman pranajiwa yang tumbuh dekat dengan sumber air memiliki pertumbuhan yang kurang bagus dibandingkan bila tanaman ini tumbuh jauh atau tidak berdekatan dengan sumber air, misalnya di pemukiman ataupun punden. Tanaman pranajiwa yang tumbuh dekat sumber air memiliki ukuran buah relatif lebih kecil dan pertumbuhan daun kurang subur (daun agak keriting).

Identifikasi berdasarkan karakter morfologi, tanaman pranajiwa memiliki batang berkayu, membulat, berwarna abu-abu sampai coklat. Tinggi tanaman pranajiwa dapat mencapai 33 m dengan usia  $\pm$  350 tahun. Daun pranajiwa berwarna hijau tua pada permukaan atas dan hijau muda pada permukaan daun bagian bawah. Bentuk daun bulat memanjang dengan panjang 5 cm - 25 cm, lebar 3 cm - 8,5 cm dan memiliki ketebalan antara 0,02 cm - 0,06 cm. Panjang tangkai daun berkisar 6,5 cm - 43 cm. Bunga pranajiwa memiliki mahkota daun berwarna merah darah. Buah pranajiwa berbentuk semanggi dengan jumlah lokus 3 - 6 setiap buah. Buah berwarna hijau pada saat masih muda dan hitam pada waktu masak. Biji pranajiwa berbentuk lonjong berwarna putih dengan kulit biji berwarna kuning. Jumlah biji setiap lokus berkisar antara 5 - 20 (Yuniastuti, 2008).

Soerawidjaja (2005) mengatakan bahwa minyak dari inti biji buah keboh (*S. foetida* L.) tergolong minyak nabati yang unik karena komponen

utama asam lemaknya adalah asam sterkulat yang mempunyai rumus molekul  $C_{19}H_{34}O_2$  dengan rantai karbonnya mempunyai gugus cycloprepenoid. Asam-asam lemak ini atau turunannya dapat digunakan sebagai komponen racikan/ramuan yang melahirkan karakteristik unggul pada berbagai produk seperti kosmetik, pelumas, cat, dan plastik. Ester isopropilnya diharapkan dapat digunakan sebagai bubuhan (*additive*), penurun titik tuang (*pour point depressant*) pada pelumas dan *bio-diessel*.

Bio-diessel adalah bahan bakar untuk mesin diesel yang dibuat dari sumber daya hayati. Kesesuaian bio-diessel untuk dapat dipakai di suatu daerah dengan iklim tertentu antara lain dinilai dari titik awan dan titik tuang. Bio-diessel produksi Indonesia terbuat dari minyak sawit dan minyak kelapa, dan memiliki titik tuang  $18^{\circ}C$ . Titik tuang yang relatif tinggi ini menyebabkan bio-diessel Indonesia tidak dapat diekspor ke negara bertemperatur rendah. Untuk mengatasi hambatan tersebut, ke dalam bio-diessel tersebut perlu ditambahkan suatu aditif penurun titik awan dan titik tuang. Hasil penelitian menunjukkan bahwa hidrogenasi dapat menguraikan gugus cycloprepenoid pada ester metil minyak keboh dan menurunkan titik awan ester metil minyak keboh, dari  $13^{\circ}C$  menjadi  $11,25^{\circ}C$  (Anggraini, 2005).

#### Budidaya Secara In vitro atau Kultur Jaringan

Kultur jaringan termasuk teknik perbanyakan tanaman secara vegetatif buatan berdasar pada sifat totipotensi tumbuhan. Totipotensi adalah kemampuan beberapa sel tanaman yang masih dalam proses pertumbuhan. Untuk mendukung keberhasilan kultur jaringan, tanaman yang akan dikulturkan berupa jaringan muda yang dalam kondisi tumbuh, seperti pucuk tanaman, daun muda, akar, dan tunas (Rahardja dan Wiryanta, 2005).

Formula dasar untuk media kultur jaringan dibuat untuk menyediakan nutrisi dan mengatur pertumbuhan yang optimal untuk tanaman yang spesifik. Formulasi media Woody Plant Medium (WPM) dikembangkan oleh Brent Mc Cown dan Greg Lloyd ini cocok dan optimal untuk kultur jaringan tanaman berkayu (Kyte and Kleyn, 1996).



Teknik kultur jaringan dapat berhasil dengan baik apabila syarat-syarat yang diperlukan terpenuhi, meliputi pemilihan eksplan sebagai bahan dasar untuk pembentukan kalus, penggunaan medium yang cocok, keadaan yang aseptik dan pengaturan udara yang baik terutama untuk kultur cair. Meskipun pada prinsipnya semua jenis sel dapat ditumbuhkan, tetapi sebaiknya dipilih bagian tanaman yang masih muda dan mudah tumbuh yaitu bagian meristem, misalnya daun muda, ujung batang, keping biji, dan sebagainya (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Metode kultur jaringan dikembangkan untuk membantu memperbanyak tanaman, khususnya untuk tanaman yang sulit dikembangkan secara generatif. Bibit yang dihasilkan dari kultur jaringan mempunyai keunggulan, antara lain mempunyai sifat identik dengan induknya, mampu menghasilkan bibit dengan jumlah besar dalam waktu singkat dan tidak membutuhkan tempat yang luas, kesehatan dan mutu bibit lebih terjamin, kecepatan tumbuh bibit lebih cepat dibandingkan dengan perbanyakan konvensional (Marino, 2007 cit. Fatmawati, 2008).

Keberhasilan penggunaan metode kultur jaringan juga sangat tergantung pada media yang digunakan. Media kultur jaringan tanaman tidak hanya menyediakan unsur hara makro dan mikro tetapi juga karbohidrat yang umumnya berupa gula untuk menggantikan karbon yang biasanya didapat dari atmosfer melalui fotosintesa. Penggunaan larutan garam-garam makro dengan konsentrasi rendah lebih baik daripada larutan dengan konsentrasi tinggi (Gunawan, 1987 cit. Herawan dan Na'iem, 2006). Konsentrasi yang tinggi mengakibatkan timbul endapan pada media sehingga tidak dapat terserap oleh eksplan.

Poliferasi tunas lateral dapat dilakukan dengan cara mengkulturkan tunas aksilar atau tunas terminal ke dalam media yang mempunyai komposisi sesuai untuk poliferasi tunas sehingga diperoleh penggandaan tunas dengan cepat. Setiap tunas yang dihasilkan dapat dijadikan sebagai sumber untuk penggandaan tunas selanjutnya sehingga diperoleh tunas yang banyak dalam waktu singkat (Kosmiatin et al., 2005).

### Macam Eksplan

Eksplan adalah jaringan yang diambil sebagai bahan tanam dalam media buatan (Raharja, 1994). Eksplan dapat berupa meristem, tunas pucuk, potongan batang, nodus, pucuk, bunga, tangkai, anther, daun bunga, potongan daun biji, embrio, bibit, hipokotil, bulb, akar, stolon (Kyte dan Klyen, 1996). Eksplan yang digunakan dalam kultur pucuk adalah pucuk utama atau lateral berukuran kurang lebih 20 mm (Goerge and Sherrington, 1984).

Menurut Suryowinoto (2000) dalam budidaya *in vitro* menginduksi terbentuknya kalus merupakan salah satu langkah penting. Setelah itu diusahakan rangsangan agar terjadi diferensiasi, terbentuk akar dan tunas. Proses mulai terjadinya kalus sampai diferensiasi berbeda-beda, tergantung macam eksplan dan bagian tanaman yang dipakai untuk eksplan serta metode budidaya *in vitro* yang digunakan. Selain itu, zat-zat tanaman yang ditambahkan pada medium dasar.

Sebelum melakukan kultur jaringan suatu tanaman, kegiatan pertama yang harus dilakukan adalah memilih tanaman induk yang akan diperbanyak. Tanaman tersebut harus jelas jenis, spesies, dan varietasnya, dan harus bebas penyakit dan sehat (Yusnita, 2004).

Cara memilih eksplan harus didasarkan oleh ilmu pengetahuan tentang sel, yaitu bagian-bagian tanaman yang mempunyai sel aktif membelah (meristem). Pada bagian sel meristem mengandung hormon tanaman, sehingga hasilnya akan sesuai seperti yang diharapkan yakni dapat memunculkan tunas maupun bagian lain dari tanaman (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Pada eksplan yang berasal dari pucuk tanaman induk yang ditumbuhkan pada media MS+BAP 0,1 ppm terbentuk tunas dan daun, tetapi daun masih rontok dan mengalami klorosis (Supriyanto et al., 1992 cit. Triatminingsih et al., 1995).

### Zat Pengatur Tumbuh

Pada kultur jaringan untuk menumbuhkan dan menggandakan tunas aksilar atau merangsang tumbuhnya tunas, ZPT yang digunakan adalah sitokinin dan

auksin dengan konsentrasi rendah. Kultur jaringan dimanfaatkan untuk merangsang pembentukan akar pada tunas, biasanya menggunakan ZPT auksin, misalnya IBA dan NAA, karena efektivitasnya tinggi dan harganya relatif murah (Yusnita, 2004).

Zat pengatur tumbuh terdiri atas lima kelompok yaitu Auksin, Giberelin, Sitokinin, Etilen dan Inhibitor dengan ciri khas serta pengaruh yang berlainan terhadap proses fisiologis tanaman (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Auksin adalah salah satu hormon tumbuhan yang tidak lepas dari proses pertumbuhan dan perkembangan suatu tanaman. Senyawa ini mempunyai kemampuan dalam mendukung terjadinya pemanjangan sel pada pucuk. Auksin alam yang paling umum adalah Asam Indole Asetat (IAA) (Salisbury dan Ross, 1995).

Salah satu zat pengatur tumbuh alami yang ditemukan pada tanaman adalah sitokinin. Salah satu jenisnya adalah BAP (6 Benzylaminopurine). Sitokinin berfungsi memacu pembesaran sel kotiledon dan daun tumbuhan dikotil. Kotiledon akan menjadi organ fotosintesis yang bagus. Bersama dengan auksin, sitokinin berfungsi dalam pertumbuhan sel meristem dan mempengaruhi perkembangan kuncup, batang, dan daun (Parnata, 2004).

Auksin pada kultur jaringan dikenal sebagai hormon yang berperan menginduksi kalus, menghambat kerja sitokinin membentuk klorofil dalam proses embriogenesis dan juga mempengaruhi kestabilan genetik sel tanaman (Santoso dan Nursandi, 2003). Ryogo (1988) juga berpendapat bahwa auksin ditemukan dalam jaringan muda yaitu pada pucuk dan endosperm yang sel-selnya masih aktif membelah.

IBA adalah hormon pengakaran lain yang biasa digunakan oleh para pemulia. IBA dihasilkan secara alami pada tanaman dan juga dapat dibuat secara sintetik. IBA lebih stabil daripada NAA dan lebih disukai untuk induksi pengakaran pada kultur jaringan (Kyte and Kleyn, 1996).

Sitokinin memiliki pengaruh yang luas sebagai efek pengatur, termasuk pertumbuhan, diferensiasi, dan berbagai macam stadium perkembangan tanaman. Sejumlah sintetik sitokinin purin digantikan dengan gugus benzyl yang dapat lebih aktif dalam hal tertentu dibandingkan dengan sitokinin alami

yang aktif. Zeatin dan BA adalah sitokinin yang paling banyak digunakan (Leopold dan Kriedemann, 1975).

Penggunaan sitokinin mempunyai peranan penting jika bersamaan dengan auksin yaitu merangsang pembelahan sel dalam jaringan yang dibuat eksplan serta merangsang pertumbuhan tunas dan daun (Wetherell 1982).

### III. METODE PENELITIAN

#### A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dimulai pada bulan Februari sampai Juni 2009 dan dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi dan Bioteknologi Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta.

#### B. Bahan dan Alat Penelitian

##### 1. Bahan Penelitian

- a. Eksplan pranajiwa (*S. foetida* Linn.) berupa kotiledon (berasal dari biji yang dikecambahkan secara steril) berukuran 1 x 1 cm dan pucuk tanaman
- b. *Woody Plant Medium* (WPM)
- c. Alkohol
- d. Aquades
- e. Clorox (sunclin)
- f. Sabun cuci
- g. Bakterisida (Agrept) dan Fungisida (Delsene)

##### 2. Alat Penelitian

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

### C. Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan lingkungan berupa Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan dua faktor perlakuan yaitu macam eksplan dengan 2 taraf perlakuan dan pemberian IBA dengan 4 taraf perlakuan, yaitu:

1. Macam eksplan :

E1 : kotiledon

E2 : pucuk tanaman

2. IBA :

I0 : 0 ppm

I1 : 0,5 ppm

I2 : 1 ppm

I3 : 1,5 ppm

Sehingga diperoleh 8 kombinasi perlakuan yaitu :

E1 I0      E2 I0

E1 I1      E2 I1

E1 I2      E2 I2

E1 I3      E2 I3

dan masing-masing diulang sebanyak 5 kali.

### D. Cara Kerja

1. Pengecambahan Biji *S. foetida*

Penanaman biji dilakukan di dalam *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC). LAFC adalah tempat menanam eksplan dan subkultur dengan kondisi aseptik. Pada proses penanaman biji sebelumnya yaitu biji dicuci dengan menggunakan air sabun dan dibilas hingga tidak berbusa. Kemudian memasukkan biji ke dalam larutan yang terdiri dari 0,3 g Agrept dan 0,2 g Delsene yang dilarutkan dalam 100 ml aquades steril selama 30 menit. Sebelum ditanam biji dibilas dengan aquades steril kemudian disterilisasi dengan larutan clorox 10 % selama 5 menit. Setelah itu menanam biji pada media pasir malang steril dalam botol dan selama

penanaman mulut botol selalu didekatkan dengan api bunsen. Kemudian menutup botol dengan aluminium foil dan melapisi dengan plastik pp.

## 2. Sterilisasi alat

Alat-alat yang disterilkan adalah botol kultur, pinset besar dan kecil. Alat-alat tersebut dicuci hingga bersih menggunakan sabun cuci lalu dikeringkan. Setelah kering, dibungkus dengan kertas koran (kecuali botol kultur). Botol kultur disterilkan bersama dengan media yang telah dibuat dan tertutup plastik pp, kemudian dimasukkan ke dalam autoklaf pada tekanan  $1,5 \text{ kg/cm}^2$  selama 45 menit.

## 3. Pembuatan larutan stok

Menimbang bahan-bahan larutan stok (sesuai komposisi dalam media WPM). Garam-garam makro ditimbang untuk pembuatan 10 liter media sehingga setiap penimbangan bahan dikalikan 10. Kemudian bahan-bahan tersebut dilarutkan dengan aquades sampai 500 ml. Penimbangan bahan vitamin dikalikan 10 kemudian dilarutkan dalam aquades sampai 100 ml. Penimbangan garam-garam mikro dikalikan 100 kemudian dilarutkan dalam aquades sampai 500 ml. Masing-masing bahan tersebut diaduk hingga homogen dengan *magnetic stirrer*, baru kemudian dimasukkan ke dalam botol dan disimpan ke dalam *refrigerator*. Pembuatan larutan stok BAP dan IBA dilakukan dengan cara menimbang bahan sebanyak 10 mg kemudian ditetesi NaOH sebagai pelarut dan diencerkan dengan aquades sampai 100 ml.

## 4. Pembuatan media

Media dibagi menjadi dua, yaitu media untuk perkecambahan berupa pasir malang dan media untuk penanaman eksplan yaitu media agar. Untuk media perkecambahan, dilakukan dengan cara mencuci pasir malang dengan air dan sabun cuci dan dibilas hingga tidak berbusa, kemudian memasukkan dalam botol kultur. Setelah itu disterilkan dengan menggunakan *autoclave* pada tekanan  $1,5 \text{ kg/cm}^2$  selama 45 menit.

Pembuatan media WPM dengan cara mencampurkan larutan stok dengan takaran tertentu dan menambahkan ZPT yaitu IBA dengan konsentrasi 0 ppm, 0,5 ppm, 1 ppm, dan 1,5 ppm serta penambahan BAP pada semua perlakuan yakni masing-masing perlakuan sebanyak 2 ppm ke dalam labu takar kemudian menambahkan aquades hingga volume 1 L. Larutan kemudian dipindahkan ke dalam beker glass, diaduk dan dipanasi. Menambahkan gula ke dalam larutan sebanyak 30 gr, setelah homogen mengukur pH dengan pH meter hingga 5,8-6,3. Apabila pH terlalu rendah ditambahkan NaOH dan apabila pH terlalu tinggi ditambahkan HCl. Setelah pH sesuai, menambahkan agar sebanyak 8 gr hingga mendidih.

Setelah mendidih, larutan selanjutnya dituangkan ke botol-botol kultur, kurang lebih 25 ml setiap botolnya. Botol ditutup dengan plastik PP, kemudian dapat dilakukan sterilisasi dengan cara mengautoklaf pada suhu 121°C, pada tekanan 1,5 kg/cm<sup>3</sup> selama 45 menit. Setelah selesai, botol diangkat dari autoklaf selanjutnya disimpan pada rak-rak kultur.

#### 5. Sterilisasi eksplan

Eksplan yang digunakan berasal dari bagian kotiledon dan tunas pucuk tanaman pranajiwa (*Sterculia foetida* L.). Tahapan sterilisasi eksplan sebagai berikut :

##### a) Eksplan pucuk

- Pucuk dibersihkan dengan aquades sampai bersih
- Masukkan eksplan ke dalam botol berisi sabun sunlight
- Membilas eksplan dengan aquades hingga tidak ada buih tertinggal
- Masukkan eksplan ke dalam botol berisi fungisida dan bakterisida masing-masing 3 gr/100 ml selama  $\pm$  5 menit
- Membersihkan eksplan dengan aquades sampai bersih
- Masukkan eksplan ke dalam botol berisi alkohol 70%
- Membersihkan eksplan dengan mencelupkannya sebentar ke dalam aquades
- Masukkan eksplan ke dalam botol berisi clorox 1% selama  $\pm$  1 menit



- Membersihkan eksplan ke dalam aquades (2 kali)
- Mencelupkan ke alkohol 70% kemudian bakar angin dan langsung tanam ke dalam media

b) Eksplan kotiledon

- Kotiledon dibersihkan dengan aquades sampai bersih
- Masukkan eksplan ke dalam botol berisi sabun sunlight
- Membilas eksplan dengan aquades hingga tidak ada buih tertinggal
- Masukkan eksplan ke dalam botol berisi fungisida dan bakterisida masing-masing 3 gr/100 ml selama  $\pm$  2 menit
- Membersihkan eksplan dengan aquades sampai bersih
- Masukkan eksplan ke dalam botol berisi alkohol 70%
- Membersihkan eksplan dengan mencelupkannya sebentar ke dalam aquades
- Masukkan eksplan ke dalam botol berisi clorox 1% selama  $\pm$  30 sekon
- Membersihkan eksplan ke dalam aquades (2 kali)
- Mencelupkan ke alkohol 70% kemudian bakar angin dan langsung tanam ke dalam media

6. Penanaman eksplan

Penanaman eksplan dengan cara memotong pucuk tanaman yang telah dikecambahkan dan memotong eksplan kotiledon tanaman berukuran 1x1 cm yang berasal dari bibit yang telah dikecambahkan secara steril dengan menggunakan pisau *scalpel*. Sebelum botol ditanami, terlebih dahulu di bagian mulut botol dipanaskan agar kontaminasi terhindarkan. Dengan hati-hati tutup botol selanjutnya dibuka. Eksplan ditanam, kemudian menutup botol dengan aluminium foil dan melapisi dengan plastik pp. Setelah itu menanam eksplan dalam botol, selama penanaman mulut botol selalu didekatkan dengan api bunsen. Kemudian menutup botol dengan aluminium foil dan melapisi dengan plastik pp.

7. Pemeliharaan

Pemeliharaan botol-botol kultur dilakukan dengan cara meletakkan pada rak-rak kultur. Botol-botol tersebut setiap dua hari sekali disemprot dengan spirtus untuk mencegah kontaminasi.

#### **E. Variabel Pengamatan**

##### 1. Saat muncul kalus

Pengamatan variabel saat muncul kalus dilakukan setiap hari. Penentuannya dilakukan dengan menghitung hari pertama sejak awal penanaman hingga muncul kalus pertama. Hal ini diindikasikan dengan pembengkakan (terdapat benjolan) eksplan yang berwarna kehijauan pada permukaan eksplan.

##### 2. Jumlah tunas

Jumlah tunas diamati pada akhir pengamatan (14 mst), dilakukan dengan menghitung jumlah tunas yang muncul. Ditandai dengan adanya tonjolan kehijauan pada permukaan eksplan.

##### 3. Jumlah daun

Jumlah daun diamati pada akhir pengamatan (14 mst), dilakukan dengan menghitung jumlah daun yang muncul pada setiap planlet.

##### 4. Panjang daun

Panjang daun (mm) diamati pada akhir pengamatan (14 mst), dilakukan dengan menghitung rerata panjang daun pada setiap planlet.

#### **F. Analisis Data**

Data hasil penelitian yang diperoleh dianalisis secara deskriptif.

## IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Pertumbuhan Eksplan Kotiledon dan Pucuk Batang Tanaman Pranajiwa (*Sterculia foetida* L.)

Tanaman pranajiwa atau sering disebut dengan kepuh tergolong tanaman tahunan. Agar dapat memperoleh bibit yang berkualitas dalam jumlah banyak, maka perlu cara perbanyak bibit yang cepat. Perkembangbiakan tanaman pranajiwa secara *in vitro* merupakan alternatif untuk pembudidayaannya karena dengan cara generatif dirasa kurang menguntungkan.

Keberhasilan dalam perbanyak kultur jaringan antara lain dipengaruhi oleh faktor eksplan dan hormon endogen maupun eksogen serta media yang digunakan. Eksplan adalah bahan tanam berukuran kecil dan masih aktif untuk membelah. Eksplan berasal dari jaringan muda dan diharapkan mudah berdiferensiasi menjadi tunas, daun, akar, maupun kalus. Pemberian zat pengatur tumbuh dalam media tanam sangat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan eksplan. Teknik tanaman pranajiwa secara *in vitro* baru dalam taraf pengujian sehingga belum diperoleh hasil yang baik. Pertumbuhan eksplan suatu tanaman dipengaruhi juga oleh sifat genetik dari tanaman itu sendiri, selain itu penambahan hormon eksogen juga diperlukan apabila hormon yang telah ada kurang dapat memacu diferensiasi eksplan.

Pada penelitian ini eksplan yang digunakan yaitu kotiledon dan pucuk batang tanaman. Sebagian besar eksplan yang mengalami diferensiasi adalah pucuk. Menurut Kartasapoetra (1991), hanya eksplan pucuk yang dapat tumbuh karena termasuk meristem apikal (ujung), yaitu jaringan muda yang terbentuk oleh initial (muda), letak jaringan ini di primordia batang maupun kalus.

Data Pertumbuhan eksplan tanaman pranajiwa (*S. foetida* L.) pada semua perlakuan IBA adalah sebagai berikut :

Tabel 1. Pertumbuhan eksplan tanaman pranajiwa (14 MST)

Eksplan	IBA (ppm)			
	0	0,5	1	1,5
Kotiledon	kalus	Kalus	kalus	kalus
Pucuk	kalus, tunas, daun	kalus, tunas, daun	kalus, tunas, daun	kalus, tunas, daun

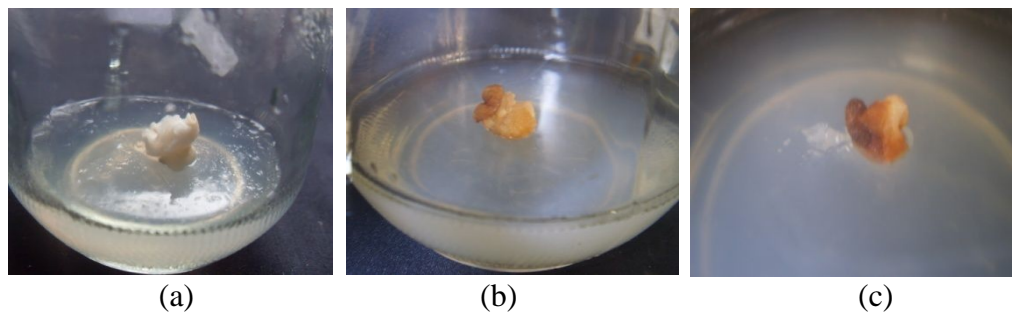
Sumber: Data hasil penelitian

Berdasar tabel 1, pada semua perlakuan tumbuh kalus. Kalus merupakan sekumpulan sel yang tidak membelah akibat dari masuknya zat pengatur tumbuh dan air ke dalam sel dan terjadi pada jaringan muda. Pernyataan ini didukung oleh Gunawan (1987) *cit.* Hidayat (2007), bahwa bagian tanaman seperti embrio muda, hipokotil, kotiledon, dan batang muda (bagian meristem) merupakan bagian yang mudah menghasilkan kalus.

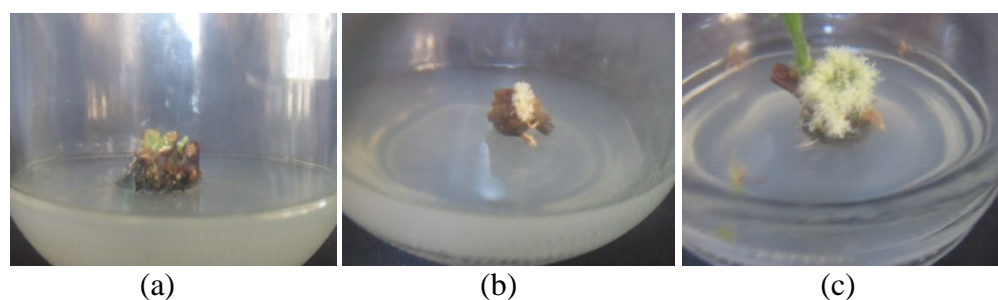
Pada penelitian ini ukuran eksplan kotiledon yang digunakan adalah 1x1 cm, dengan ukuran ini diharapkan resiko kontaminasi kecil. Eksplan kotiledon seluruhnya membentuk kalus berwarna putih bening yang lama kelamaan berubah warna menjadi putih susu, dan kemudian mengalami pencoklatan rata-rata setelah 20 HST (gambar 1a dan 1b). Kalus setelah mengalami pencoklatan kemudian tidak mengalami pertumbuhan lagi atau mengalami stagnasi (gambar 1c). Hal ini karena media yang dipergunakan belum dapat memacu pertumbuhan organ lain pada eksplan kotiledon. Selain itu, eksplan bukan merupakan bagian meristematik sebab sel-selnya rusak atau telah mati akibat pengaruh dari faktor pra penanaman (Anjar, 2008) dan sterilisasi yang berlebihan.

Pada eksplan pucuk batang, kalus tumbuh pada bekas potongan batang (gambar 2b) dan bertekstur remah menyerupai serbuk berwarna putih (gambar 2c). Selain itu, batang mengalami pembengkakan dan berubah warna yang awalnya hijau menjadi coklat (gambar 2a). Hal ini diduga berasal dari enzim dari dalam eksplan. Pernyataan ini didukung oleh Santoso dan

Nursandi (2003) yang mengatakan bahwa pencoklatan eksplan terjadi karena pembentukan senyawa phenol oleh salah satu bahan kimia yaitu enzim phenol sehingga mendorong oksidasi phenol.



Gambar 1. Perubahan warna kalus pada eksplan kotiledon tanaman Pranajiwa (a) kalus berwarna putih pada awal muncul kalus (b) kalus berwarna coklat saat 20 HST (c) kalus berwarna coklat tua pada akhir pengamatan (14 MST)



Gambar 2. Kalus berasal dari eksplan pucuk tanaman Pranajiwa (a) pembengkakan pucuk batang disertai munculnya kalus (b) kalus pada potongan pucuk batang (c) kalus remah seperti serbuk berwarna putih

Selain kalus, eksplan pucuk tanaman pranajiwa dapat tumbuh dan berkembang menjadi tunas dan daun, namun tidak dapat memunculkan akar (tabel 1). Ini diduga karena konsentrasi IBA pada media yang diberikan belum dapat menginduksi perakaran eksplan pucuk pranajiwa. Seperti yang dikatakan oleh Gunawan (1987) *cit.* Hidayat (2007) bahwa setiap sel, jaringan organ, dan tanaman yang berbeda memberikan respon yang berbeda terhadap media tumbuh yang sama.

## B. Saat Muncul Kalus

Kalus merupakan sekumpulan sel yang masih berkembang dan belum terdiferensiasi menjadi organ yang lain. Induksi kalus dipengaruhi oleh penggunaan zat pengatur tumbuh, biasanya dari golongan auksin. Pada penelitian ini yang digunakan yaitu IBA. Saat munculnya kalus merupakan indikasi untuk mengetahui perkembangan eksplan pada budidaya tanaman secara *in vitro*. Jika kalus semakin cepat muncul maka semakin cepat pula dihasilkan bahan untuk memperbanyak tanaman. Rata-rata saat muncul kalus eksplan tanaman pranajiwa pada berbagai konsentrasi IBA disajikan dalam tabel 2.

Tabel 2. Pengaruh macam eksplan dan konsentrasi IBA terhadap saat muncul kalus tanaman pranajiwa (HST)

Macam Eksplan	IBA (ppm)			
	0	0,5	1	1,5
Kotiledon	24	32	41,33	22
Pucuk	17	34,66	18,66	21,75

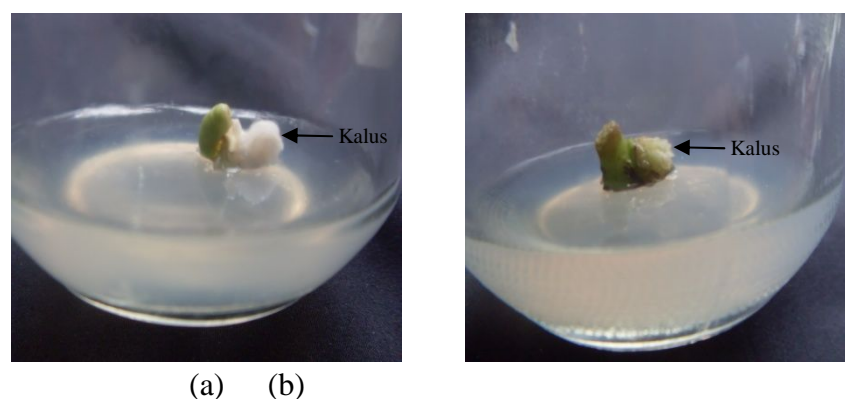
Keterangan : ppm = part per million (mg/l)  
HST = hari setelah tanam

Tabel 2 menunjukkan bahwa saat muncul kalus tercepat pada eksplan pucuk dengan tanpa pemberian IBA. Hal ini diduga secara genetis tanaman pranajiwa tidak memerlukan auksin dari luar, artinya kandungan auksin endogen telah mampu menginduksi munculnya kalus didukung adanya sitokinin eksogen (BAP), dimana konsentrasinya lebih tinggi dari auksin, maka kalus lebih cepat terbentuk dan diferensiasi kalus ini akan mengarah ke munculnya tunas. Yusnita (2004) menyatakan bahwa kadang-kadang sitokinin dibutuhkan untuk memunculkan kalus.

Sedang pada eksplan kotiledon saat muncul kalus tercepat pada konsentrasi IBA 1,5 ppm. Hal ini diduga konsentrasi IBA 1,5 ppm dan BAP 2 ppm adalah kombinasi yang sesuai untuk memunculkan kalus. Pernyataan ini didukung oleh Bhojwani dan Razdan (1983) *cit.* Anonim (2009) bahwa jika

sitokinin dan auksin dalam jumlah yang seimbang akan mendorong pembentukan kalus.

Keadaan tersebut sesuai dengan pernyataan Santoso dan Nursandi (2003) bahwa auksin pada kultur jaringan dikenal sebagai hormon yang berperan menginduksi kalus dan mempengaruhi kestabilan genetik sel tanaman. Selain itu diduga telah terjadi keseimbangan antara auksin dan sitokinin dalam melakukan proses regenerasi sel.



Gambar 3. Kalus yang berasal dari berbagai eksplan tanaman pranajiwa (a) eksplan kotiledon (b) eksplan pucuk batang

Pada eksplan kotiledon dan pucuk tanaman (gambar 3a dan 3b) kalus yang terbentuk merupakan kalus air, berwarna putih bening dan membentuk tonjolan-tonjolan. Seperti yang dikemukakan oleh Hidayat (2007) bahwa pertumbuhan kalus pada eksplan di tandai dengan munculnya tonjolan-tonjolan kecil yang menyebabkan eksplan membengkak pada jaringan di sekitar luka ke bagian tengah eksplan, kemudian jaringan membesar dan mengembang serta bertambah banyak. Oleh karena itu, perlu penambahan zat pengatur tubuh dalam konsentrasi yang tepat sehingga kemungkinan dapat menginisiasi pertumbuhan yang lebih baik.

Setelah umur rata-rata 60 HST kalus berubah warna menjadi kecoklatan dan setelah akhir pengamatan warna kalus menjadi coklat tua. Diduga pencoklatan pada eksplan akibat sterilisasi menggunakan bahan kimia maupun unsur yang terdapat dalam media yang digunakan, dan faktor pemotongan eksplan. Menurut Purnamaningsih (2002) bahwa apabila  $\text{NH}_4$

digunakan sebagai sumber N tunggal ternyata tidak terbentuk embriosomatik, selain itu laju pertumbuhan kalus rendah dan kalus berwarna coklat. Santoso dan Nursandi (2003) mengatakan bahwa pencoklatan merupakan peristiwa yang sering terjadi karena pembentukan senyawa phenol dan proses perubahan adaptif bagian tanaman akibat pengaruh fisik seperti pengupasan, pemotongan dan berasal dari proses biokimia di dalam tubuh.

### C. Jumlah Tunas

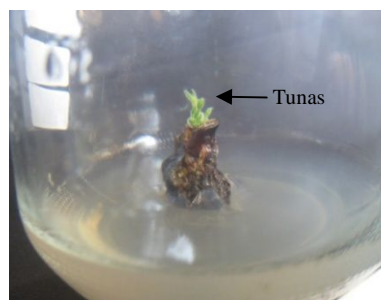
Munculnya tunas merupakan faktor penting dalam budidaya secara *in vitro* untuk mengetahui perkembangan dan pertumbuhan eksplan. Tunas terbentuk dari hasil diferensiasi sel eksplan (gambar 4). Semakin cepat muncul tunas maka semakin cepat pula dihasilkan bahan untuk perbanyakan tanaman. Pada penelitian ini setelah 14 MST tunas yang muncul hanya terdapat pada eksplan pucuk tanaman karena pada kotiledon belum mampu untuk menumbuhkan tunas. Hal ini berkaitan dengan jenis eksplan yang digunakan dan sifat meristematik pucuk tanaman yang lebih baik dari kotiledon. Wattimena (1992) *cit.* Wulandari *et al.* (2004) mengatakan bahwa perbedaan dari bagian tanaman yang digunakan akan menghasilkan pola pertumbuhan yang berbeda.

Setiap perlakuan IBA ditambahkan BAP sebanyak 2 ppm yang bertujuan untuk menyeimbangkan kerja auksin dalam jaringan. Hal ini didukung pendapat Sofia (2007) bahwa penambahan BAP 2 ppm pada media tumbuh dapat meningkatkan jumlah tunas tanaman. Penambahan hormon sitokinin contohnya BAP mampu mempercepat saat kemunculan tunas dibanding dengan tanpa penambahan BAP. Sitokinin berpengaruh terutama pada pembelahan sel dan inisiasi tunas (Kyte dan Klyen, 1996). Rerata jumlah tunas eksplan pucuk tanaman pranajiwa pada berbagai konsentrasi IBA disajikan pada gambar 5.

Tunas yang terbentuk berasal dari hasil pemanjangan tunas pucuk batang tanaman. Pada IBA 0 ppm, 0,5 ppm, dan 1 ppm menghasilkan tunas yang sama yaitu sebanyak 1 buah. Diduga auksin endogen pada eksplan mempunyai pengaruh yang sama dengan konsentrasi tanpa IBA (0 ppm),



0,5 ppm dan 1 ppm terhadap tumbuhnya tunas. Pernyataan ini didukung oleh Nursetiadi (2007) bahwa auksin endogen yang terdapat pada eksplan telah mampu mendorong pembentukan tunas, sehingga hanya membutuhkan auksin yang tidak terlalu tinggi.



Gambar 4. Plantlet pada eksplan pucuk tanaman pranajiwa diindikasikan dengan munculnya calon daun

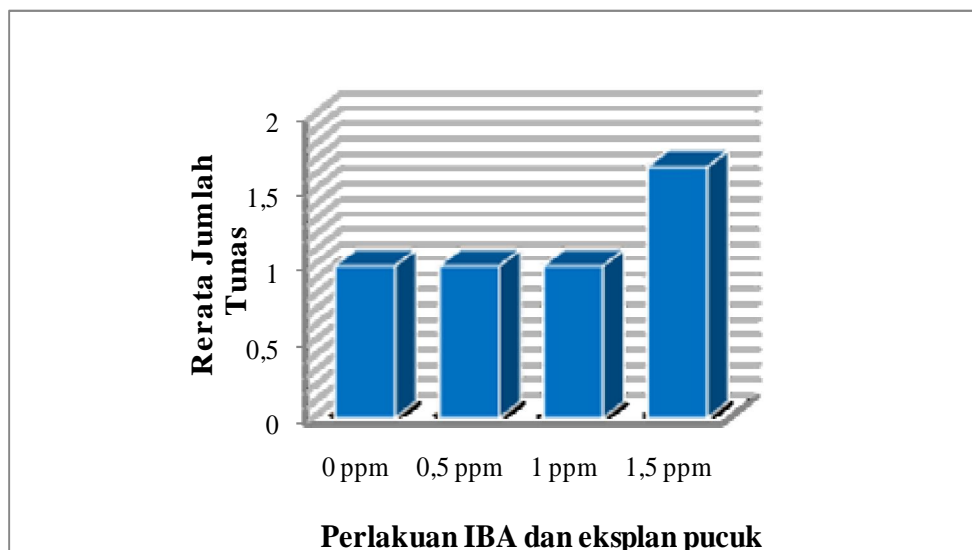
Kemungkinan lain karena IBA konsentrasi 0,5 ppm dan 1 ppm yang diperlakukan belum dapat memacu tumbuhnya tunas akibat dari totipotensi eksplan yang masih rendah sehingga harus dipacu dengan peningkatan konsentrasi IBA secara kontinyu. Menurut Rahardja dan Wiryanta (2005) bahwa dalam teknik kultur jaringan didasarkan pada sifat totipotensi tumbuhan, totipotensi adalah kemampuan beberapa sel tanaman yang masih dalam proses pertumbuhan untuk membentuk individu tanaman.

Jumlah tunas terbanyak adalah 1,66 buah, terdapat pada perlakuan IBA 1,5 ppm. Diduga pada konsentrasi 1,5 ppm merupakan konsentrasi optimal dan memberikan respon positif pada eksplan untuk meningkatkan jumlah tunas. Hal ini berkaitan dengan keseimbangan antara auksin dan sitokinin yang terkandung, pemberian sitokinin 2 ppm ini dapat menyeimbangkan kerja auksin eksogen pada eksplan. Pendapat ini diperkuat oleh Katuuk (1989) *cit.* Yuniastuti *et al.* (2003) bahwa kehadiran sitokinin pada budidaya *in vitro* mempunyai peranan penting sebagai perangsang tunas.

Tunas yang terbentuk merupakan tunas – tunas aksilar yang tumbuh pada bekas potongan eksplan pucuk akibat penekanan pertumbuhan tunas lateral. Menurut Bhojwani dan Razdan (1983) *cit.* Zulkarnain (2009) proliferasi tunas aksilar diperlukan dalam kultur jaringan karena sel-selnya

bersifat seragam dan resisten terhadap perubahan-perubahan genotip. Tunas aksilar ini dapat dipacu dengan media yang mengandung sitokinin pada konsentrasi tepat, baik dengan atau tanpa auksin. Ditambahkan oleh Wattimena (2000) bahwa proliferasi tunas aksilar hanya memerlukan sitokinin dalam konsentrasi tinggi tanpa auksin atau auksin dalam konsentrasi yang rendah sekali.

Selain itu, kandungan nutrisi yang terdapat pada media WPM mampu dioptimalkan oleh eksplan untuk pembentukan tunas. Media WPM merupakan media yang biasa digunakan dalam kultur jaringan pada berbagai jenis tanaman berkayu.



Gambar 5. Pengaruh konsentrasi IBA terhadap jumlah tunas eksplan pucuk tanaman pranajiwa

Menurut Pardal *et al.* (2004) *cit.* Nursetiadi (2008) bahwa media WPM banyak digunakan pada berbagai spesies tanaman berkayu, karena memiliki kandungan total ion yang rendah, tetapi kandungan sulfatnya tinggi. Unsur makro yang terdapat pada media WPM seperti unsur magnesium yang tinggi sangat mendukung dalam pertumbuhan jaringan tanaman. Wetherell (1982) mengatakan bahwa di dalam media harus terkandung mineral, gula, vitamin dan hormon dengan perbandingan yang dibutuhkan secara tepat.

#### D. Jumlah Daun

Daun merupakan salah satu organ penting bagi tumbuhan yang tumbuh dari batang, umumnya berwarna hijau dan berfungsi sebagai penangkap energi dari cahaya matahari melalui fotosintesis (Anonim<sup>d</sup>, 2009). Fotosintesis yaitu proses pembentukan karbohidrat dari CO<sub>2</sub> dan H<sub>2</sub>O dengan bantuan sinar matahari. Semakin banyak jumlah daun, mengindikasikan pertumbuhan eksplan yang semakin baik.

Pada penelitian ini eksplan pucuk tanaman pranajiwa telah membentuk daun. Jumlah daun dihitung saat akhir penelitian. Data pengamatan terhadap jumlah daun dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Pengaruh konsentrasi IBA terhadap jumlah daun eksplan pucuk tanaman pranajiwa (helai)

Perlakuan IBA (ppm)	Rerata jumlah daun
0	4,5
0,5	2,25
1	2,66
1,5	3,66

Keterangan : ppm = part per million (mg/l)

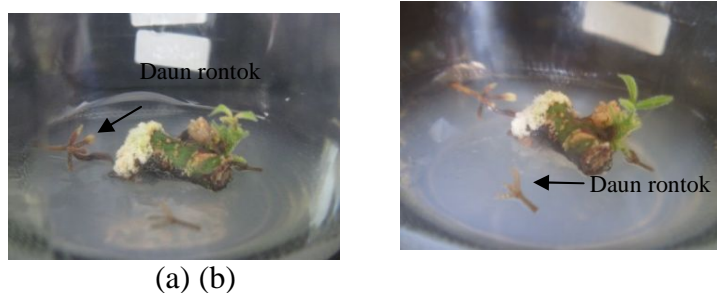
Rata-rata jumlah daun tertinggi pada perlakuan tanpa IBA (0 ppm) sebanyak 4,5 helai. Diduga ratio konsentrasi tersebut dengan sitokinin 2 ppm dapat meningkatkan jumlah daun pada eksplan. Pembentukan daun pada kultur jaringan juga dipengaruhi oleh hormon sitokinin. Menurut Yelnitis (1996) *cit.* Purwanto (2008) bahwa penambahan sitokinin golongan BAP pada rasio sitokinin yang lebih tinggi dibandingkan auksin pada media dapat mendorong meningkatnya jumlah daun.

Konsentrasi IBA ditingkatkan menjadi 0,5 ppm jumlah daun menurun menjadi 2,25 helai. Diduga karena perbandingan sitokinin dan auksin yang relatif besar sehingga menghambat terbentuknya daun. Selain itu semua eksplan tidak memunculkan akar sehingga penyerapan nutrisi melalui xylem dan floem kurang maksimal. Menurut Waloyaningsih (2004) tanpa akar penyerapan sitokinin dari media dan pengangkutan ke bagian tanaman

menjadi terhambat. Hal ini akan mengakibatkan jumlah daun menurun. Namun, jika konsentrasi IBA ditingkatkan menjadi 1 ppm hingga 1,5 ppm, maka jumlah daun juga meningkat. Diduga penambahan konsentrasi IBA mencapai konsentrasi optimal dan terjadi keseimbangan antara auksin dan sitokinin sehingga dapat membantu aktifitas eksplan untuk memunculkan daun. Selain itu terkait dengan pengaruh eksplan untuk merespon zat pengatur tumbuh yang disesuaikan dengan kebutuhan eksplan untuk berkembang. Stepan dan Sarkissian (1990) *cit.* Hidayat (2007) menyatakan bahwa morfogenesis jaringan dipengaruhi oleh interaksi dan keseimbangan zat pengatur tumbuh yang ditambahkan dari luar (eksogen) dan hormon tumbuh yang dihasilkan sel itu sendiri. Masing-masing eksplan diduga memiliki sifat genetik berbeda, mengingat perbanyakan tanaman pranajawa menggunakan biji, sehingga menyebabkan respon atau kepekaan sel yang berbeda terhadap rangsangan zat pengatur tumbuh dan mekanisme kerja zat pengatur tumbuh tidak konstan di dalam jaringan eksplan sehingga menghasilkan respon yang tidak pasti pada eksplan (Pratiwi, 2004 *cit.* Acima, 2006).

Auksin dalam budidaya jaringan berperan dalam mempengaruhi perkembangan dan pembesaran sel, sehingga tekanan dinding sel terhadap protoplasma berkurang, hal ini mengakibatkan protoplast dapat mengabsorpsi air di sekitar sel, sehingga sel menjadi panjang terutama sel-sel di bagian meristem (Hidayat, 2007).

Daun berubah warna menjadi coklat dan mengalami kerontokan, daun rontok dari pangkal tangkai daun (gambar. 6). Hal ini kemungkinan disebabkan oleh nutrisi yang ada belum mencukupi kebutuhan keberlangsungan daun hingga eksplan dapat tumbuh sempurna. Diduga penyerapan tidak optimal karena belum terbentuknya akar pada eksplan. Menurut Supriyanto *et al.* (1992) *cit.* Triaminingsih *et al.* (1995) daun yang terbentuk mengalami kerontokan karena klorosis. Klorosis merupakan peristiwa menurun atau berkurangnya klorofil akibat penambahan auksin sehingga terjadi kombinasi auksin endogen dan eksogen dalam jaringan, kemudian mensintesis etilen yang akan menyebabkan penuaan daun.



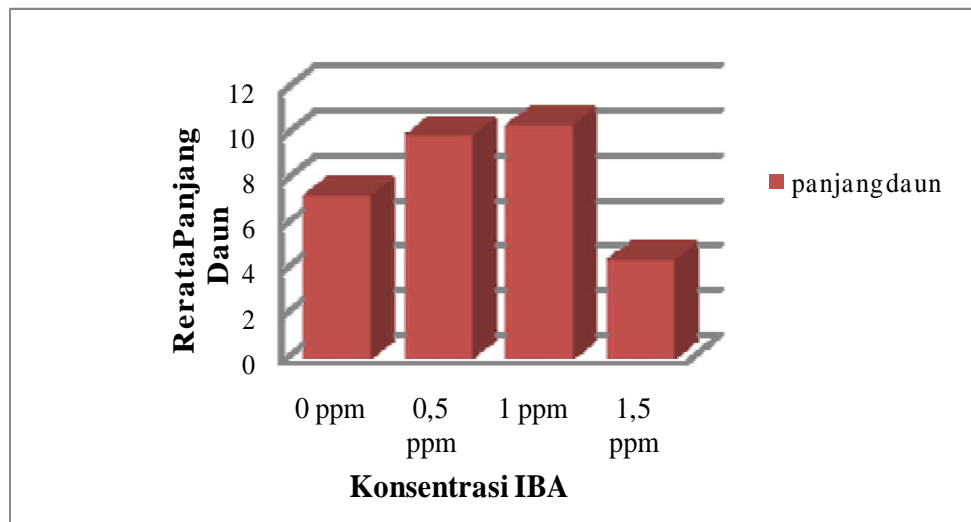
Gambar 6. Daun rontok pada eksplan pucuk tanaman pranajiwa (a) Daun rontok berwarna kuning kecoklatan (b) Daun rontok beserta tangkai daun

### E. Panjang Daun

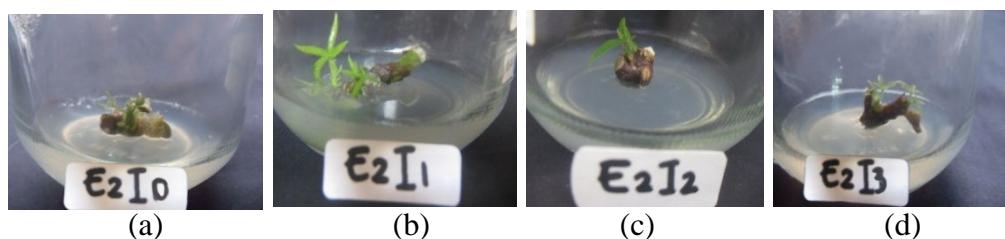
Daun merupakan tempat pembentukan zat-zat yang dibutuhkan tanaman untuk tumbuh dan berkembang karena proses fotosintesis yang terjadi terdapat pada daun. Semakin banyak daun maka semakin banyak suplai karbohidrat yang diproduksi. Rerata panjang daun tiap eksplan dihitung pada daun yang masih menempel pada eksplan sedangkan yang rontok diabaikan, perhitungan dimulai pada akhir pengamatan (14 MST).

Rerata daun terpanjang adalah 10,36 mm (lampiran. 3 dan gambar. 7) yaitu pada konsentrasi IBA 1 ppm, sedang perlakuan 1,5 ppm memiliki rerata panjang daun terendah yaitu 4,33 mm. Diduga pemberian IBA pada konsentrasi 1 ppm telah sesuai sehingga mampu menginduksi pertumbuhan dan pemanjangan daun secara optimal. Pada gambar 7. diketahui bahwa dengan penambahan IBA dapat meningkatkan panjang daun, namun pada konsentrasi tertinggi yakni 1,5 ppm panjang daun menurun. Hal ini karena auksin pada konsentrasi yang terlalu tinggi (1,5 ppm) justru akan menghambat pertumbuhan. Selain itu, kemampuan dari setiap sel untuk merangsang zat pengatur tumbuh yang ditambahkan berbeda dan mempunyai batas optimal seperti yang diutarakan oleh Tripepi (1997) *cit.* Santoso *et al.* (2004) bahwa kemampuan sel dalam mencapai batas optimum konsentrasi zat pengatur tumbuh eksplan mempunyai batas fisiologi untuk dapat berdiferensiasi.

Rerata panjang daun eksplan tanaman pranajiwa pada pucuk tanaman dan konsentrasi IBA disajikan pada gambar 7.



Gambar 7. Pengaruh konsentrasi IBA terhadap rerata panjang daun eksplan pucuk tanaman pranajiwa (mm)



Gambar 8. Pengaruh konsentrasi IBA terhadap panjang daun eksplan pucuk tanaman pranajiwa pada beberapa konsentrasi IBA (a) 0 ppm (b) 0,5 ppm (c) 1 ppm (d) 1,5 ppm

Penggunaan zat tumbuh yang berlebihan justru menghambat pertumbuhan tanaman itu sendiri. Sebagaimana diungkapkan Gardner *et al.* (1991), pemberian auksin dengan konsentrasi tinggi mempunyai efek menghambat pertumbuhan jaringan sebab terdapat persaingan untuk mendapatkan tempat peletakan pada tempat kedudukan penerima, yaitu penambahan konsentrasi meningkatkan kemungkinan terdapatnya molekul yang sebagian melekat menempati tempat kedudukan penerima, yang menyebabkan kurang efektifnya gabungan tersebut. Diperjelas oleh George and Sherrington (1984), bahwa penggunaan zat pengatur tumbuh dalam kultur *in-vitro* pada batas-batas tertentu mampu merangsang pertumbuhan,

namun dapat bersifat sebagai penghambat apabila digunakan melebihi konsentrasi optimum. Penurunan panjang daun juga dapat disebabkan akibat terlalu pekatnya kondisi diluar sel, sehingga menyebabkan cairan sel keluar secara osmosis, akibatnya terjadi plasmolisis.

Pengaruh keberadaan akar dimungkinkan berpengaruh terhadap pertumbuhan daun. Tanpa akar, penyerapan sitokinin dari media dan pengangkutan ke bagian tanaman menjadi terhambat. Hal ini akan mengakibatkan pertumbuhan daun terhambat (Yelnititis *et al.*, 1999 *cit.* Nursetiadi, 2007).

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### A. Kesimpulan

1. Eksplan kotiledon tanaman pranajiwa hanya mampu menghasilkan kalus.
2. Eksplan pucuk memberikan hasil optimal pada jumlah tunas, daun dan panjang daun.
3. Tanpa penambahan IBA (0 ppm) eksplan pucuk mampu menghasilkan jumlah daun terbanyak.
4. Konsentrasi IBA 1,5 ppm pada eksplan pucuk sesuai untuk perbanyak pranajiwa secara *in vitro* dan mampu memunculkan tunas terbanyak.

### B. Saran

1. Perlu adanya penelitian kajian konsentrasi IBA yang dipadukan dengan konsentrasi jenis sitokinin lain untuk dapat menumbuhkan akar pada eksplan tanaman pranajiwa.
2. Perlu kajian variasi macam eksplan yang lain dari tanaman pranajiwa.



## DAFTAR PUSTAKA

- Acima. 2006. *Pengaruh Jenis Media dan Konsentrasi BAP Terhadap Multiplikasi Adenium (Adenium obesum) Secara In Vitro*. Skripsi S1 Fakultas Pertanian UNS. Surakarta.
- Anggraini, L. 2005. Karakteristik Produk Hidrogenasi Ester-Ester (monoalkil) Asam-Asam Lemak Minyak Kepoh (*Sterculia foetida*) Sebagai Adiptif Biodisel. <http://abstraksi-ta.fit.itb.ac.id>. Diakses tanggal 27 Desember 2008.
- Anjar. 2008. Masalah-Masalah Dalam Kultur Jaringan. [http://anjarborneo.blogspot.com/2008\\_12\\_01\\_archive.html](http://anjarborneo.blogspot.com/2008_12_01_archive.html). Diakses tanggal 2 Juli 2009.
- Anonim<sup>a</sup>. 2008. Detil Data *Sterculia foetida*. <http://www.kehati.or.id/prohati/browser.php?docsid=288>. Diakses tanggal 27 Desember 2008.
- Anonim<sup>b</sup>. 2008. Informasi Spesies-Kepuh. <http://plantamor.com>. Diakses tanggal 7 September 2009.
- Anonim<sup>c</sup>. 2009. ?. <http://spark-indonesia.com/SparkDieselSupplementDetail.html>. Diakses tanggal 6 Februari 2009.
- Anonim<sup>d</sup>. 2009. Daun. <http://id.wikipedia.org>. Diakses tanggal 25 Agustus 2009.
- D'silva, T. 2008. ?. *Sterculia foetida*. <http://www.dictionaty.reference.com/search?=&sterculia+foetida>. Diakses tanggal 27 Desember 2008.
- Fatmawati, A. 2008. *Kajian Konsentrasi BAP dan 2,4-D Terhadap Induksi Kalus Tanaman Artemisia annua L. Secara In Vitro*. Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Gardner, F. P., R. B. Pearce dan R. L. Mitchell. 1991. *Fisiologi Tanaman Budidaya*. UI Press. Jakarta.
- George, R.F and Sherrington. 1984. *Plant Tissue Culture. Theory and Practice*. Elsevier. Tokyo.
- Hendaryono, D.P.S dan A.Wijayani. 1994. *Teknik Kultur Jaringan Pengenalan dan Petunjuk Perbanyakkan Tanaman Secara Vegetatif Modern*. Kanisius. Yogyakarta.
- Herawan, T., dan M. Na'iem. 2006. *Teknik Kultur Jaringan, Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman*. Pusat Antar Universitas (PAU) Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Hidayat. 2007. Induksi Pertumbuhan Eksplan Endosperm Ulin dengan IAA dan Kinetine. *Jurnal Agrotrop* 26(4):147-152. Fakultas Pertanian

- Universitas Udayana, Bali dalam <http://www.ejournal.unud.ac.id>. Diakses tanggal 5 Juni 2009.
- Kartasapoetra, A.G. 1991. *Pengantar Anatomi Tumbuhan*. PT.Rineka Cipta. Jakarta.
- Kosmiatin, M., A. Husni, dan I. Mariska. 2005. Perkecambahan dan Perbanyakan Gaharu Secara In Vitro. *J. Agrobiogen* 1(2):62-67.
- Kyte, L., and J. Kleyn. 1996. *Plant From Test Tubes An Introduction to Micropropagation*. Timber Press, Inc. Portland.
- Leopold, A.C. dan P.E. Kriedemann.1975. *Plant Growth and Development*. Tata Mc.Grau-Hill Publishing Company Ltd. New Delhi.
- Noezar, I. 2007. Konversi Produk Industri Oleokimia Menjadi Pelumas Sintetik. <http://digilib.itb.ac.id>. Diakses tanggal 6 Februari 2009.
- Nursetiadi, E. 2008. *Kajian Macam Media dan koNsentrasi BAP TerhadapMultiplikasi Tanaman Manggis (Garcinia mangostana L.) Secara In Vitro*. Skripsi S1 Fakultas Pertanian UNS. Surakarta
- Parnata, A.S. 2004. *Pupuk Organik Cair Aplikasi dan Manfaatnya*. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Pierik, R.L.M. 1987. *In Vitro Culture of Higher Plants*. Martinus Nijhoff Publishers. Netherland.
- Purnamaningsih, R. 2002. Regenerasi Tanaman melaluiEmbriogenesis Somatik dan Beberapa Gen yang Mengendalikannya. *Buletin AgroBio* 5(2):51-58 dalam <http://www.indobiogen.or.id>. Diakses tanggal 2 Juli 2009.
- Purwanto, A. 2008. *Kajian Macam Eksplan dan Konsentrasi IBA Terhadap Multiplikasi Tanaman Manggis (Garcinia mangostana L.) Secara In Vitro*. Skripsi Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Raharja, P.C. 1994. *Kultur Jaringan*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Rahardja, P.C dan W. Wiryanta. 2005. *Aneka Cara Memperbanyak Tanaman*. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Ryogo, K. 1988. *Fruit Culture*. John Wiley and Sons, Inc. NewYork.
- Salisbury, F.K. dan C.W.Ross. 1995. *Fisiologi Tumbuhan Jilid 3*. Penerbit ITB. Bandung.
- Santoso, U dan F. Nursandi. 2003. *Kultur Jaringan Tanaman*. Universitas Muhamadiyah Malang Press. Malang.
- Santoso, J., N. T. Mathius, U. Sastraprawira,G.Suryatmana, dan D. Saodah. 2004. Perbanyak Tanaman Kina Cinchona Ledgeriana Moens dan C. *Succirubra pavon* Melalui Penggandaan Tunas Aksiler. *Jurnal Menara Perkebunan* 72(1):11-27 dalam <http://www.ipard.com/infopstk>. diakses tanggal 25 Agustus 2009.

- Soerawidjaja. 2005. Pembuatan Asam Lemak Bercabang dari Minyak Kepoh. *Jurnal Teknik Kimia Indonesia*. 4(1).
- Sofia, D. 2007. *Pengaruh Berbagai Konsentrasi Benzylamino Purine dan Cycocel Terhadap Pertumbuhan Embrio Kedelai (Glycine Max.L.Merr.) Secara In Vitro*. Karya Tulis Mahasiswa 2007, Fakultas Pertanian Universitas Sumatra Utara. Sumatra.
- Suryowinoto, M. 2000. *Pemuliaan Tanaman Secara In Vitro*. Kanisius. Yogyakarta.
- Triatminingsih, R.E., Nazir, dan M.Winarno. 1995. Pengaruh Saat Penanaman dan Pemberian Zat Pengatur Tumbuh Pada Sumber Eksplan terhadap Keberhasilan Inisiasi Tunas Manggis Secara In Vitro Pada Beberapa Semaian Batang Bawah Alternatif Manggis. *Jurnal Hortikultura* 9(3):188-191.
- Waloyaningsih, D. 2004. *Pengaruh Konsentrasi IAA dan BAP Pada Medium MS Terhadap Tingkat Multiplikasi Tunas Bawang Putih (Allium sativum L) Secara In Vitro*. Skripsi S1 Fakultas Pertanian UNS. Surakarta.
- Watherell, D. F. 1982. *Pengantar Propagasi secara In Vitro*. IKIP Semarang Press. Semarang.
- Wattimena, G. A. 2000. *Penggunaan Pengatur Tumbuh Tumbuhan pada Perbanyak Propagul Tanaman*. PAU. IPB. Bogor.
- World Agroforestry Centre. 2008. *Sterculis foetida*. <http://www.worldagroforestrycentre.org/sea/Products/AFDbases/af/asp/speciesInfo.asp?SpID=98>. Akses 12 Januari 2009.
- Wulandari, S., W. Syafii, dan Yossilia. 2004. Respon Eksplan Daun Tanaman Jeruk Manis (*citrus sinensis* L.) Secara In Vitro Akibat Pemberian NAA dan BA. *Jurnal Biogenesis* Vol. 1(1):21-25 dalam [http://biologi-fkip.unri.ac.id/karya\\_tulis/wulandari.pdf](http://biologi-fkip.unri.ac.id/karya_tulis/wulandari.pdf). Diakses tanggal 30 Juli 2009.
- Yuniastuti, E. 2008. Laporan Program Intensif Riset Dasar: *Identifikasi dan Seleksi Keragaman Tanaman Pranajiwa (Sterculia foetida) Serta Teknologi Perbanyak Tanaman Secara In Vitro Untuk Penyediaan Bahan Baku Biofuel*. Fakultas Peratanian UNS. Surakarta.
- Yuniastuti, E., dan S. Hartati. 2003. Kajian Penggunaan Berbagai Macam Eksplan dan Zat Pengatur Tumbuh Pada Perbanyak Tanaman Jati (*Tectona grandis*) Secara In Vitro. *Caraka Tani* 18 (2) : 75-81.
- Yusnita. 2004. *Kultur Jaringan Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efektif*. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Zulkarnain. 2009. *Kultur Jaringan Tanaman*. Bumi Aksara. Jakarta.

