

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Lerak

Lerak (*Sapindus rarak*) merupakan tanaman tahunan yang dapat tumbuh dengan tinggi 10-42 meter, diameter batang 1 meter dan buah seperti kacang-kacangan. Lerak termasuk dalam divisi Magnoliophyta yang merupakan famili Sapindaceae khas Indonesia. Lerak dapat tumbuh dengan baik pada ketinggian 450 – 1500 mdpl. Fatmawati (2014), menyatakan bahwa buah lerak memiliki tekstur daging yang lengket pada kondisi segar, berwarna hitam dengan ketebalan sekitar 1-1,5 cm dan tekstur keras. Berikut klasifikasi lerak:

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Sapindales
Famili : Sapindaceae
Genus : *Sapindus*
Spesies : *Sapindus rarak* (Inarah dan I Ketut 2014).

Di Jawa tanaman ini tumbuh liar, mempunyai nama yang berbeda di setiap daerah seperti di Palembang disebut lamuran, di Jawa Tengah dan Jawa Timur lerak dan di Jawa Barat sering rerek. Kayunya pohon lerak sangat ringan dan biasa digunakan sebagai papan cor, batang korek api dan kerajinan dari kayu (Laba 2009).

Bentuk buah seperti kelereng kalau sudah tua atau masak, berwarna coklat kehitaman, permukaan buah licin atau mengkilat. Buah lerak keras, bulat dengan diameter ± 2 cm. Buah lerak terdiri dari 73% daging buah dan 27% biji. Daging buah sedikit berlendir dan beraroma wangi (Yanti 2016).

Batang lerak berwarna putih dan berakar tunggang. Daun lerak merupakan daun majemuk menyirip ganjil dan anak daun berbentuk lanset. Lerak berbunga majemuk, malai, terdapat di ujung batang berwarna putih kekuningan. Bunga lerak berbentuk tandan (*racemes*), melekat di pangkal, warna kuning keputihan dengan 4 daun mahkotanya (Yanti 2016).

Penggunaan bahan pencuci dalam kehidupan tidak lepas dari kandungan berbagai zat kimia. Bahan kimia pada bahan pencuci akan menimbulkan

pencemaran lingkungan dan membahayakan organisme hidup. Buah lerak dapat dimanfaatkan sebagai bahan pencuci alami yang ramah lingkungan karena kandungan aktif saponin (Kuo et al. 2005). Saponin yaitu suatu alkaloid berfungsi sebagai bahan pencuci yang memiliki sifat seperti sabun dan bertindak sebagai surfaktan. Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat dan menimbulkan busa bila dikocok dengan air.

Lerak merupakan bahan pembersih yang efektif untuk perak, tingkat kebersihan dan kecemerlangan logam semakin meningkat seiring dengan lama perendaman. Perak dan perunggu dapat dibersihkan dengan larutan lerak melalui perendaman selama 24 jam. Pembersihan logam menggunakan larutan lerak dengan variasi waktu perendaman menunjukkan hasil yang hampir sama antara perak dan perunggu sedangkan besi berbeda (Fatmawati 2014).

Buah lerak merupakan salah satu alternatif bahan alami yang dapat dikembangkan untuk mencuci batik dan emas, obat jerawat, obat penyakit kulit (Laba 2009). Kandungan utama buah ini adalah saponin triterpenoid, senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun, dan flavonoid, fenol serta alkaloid, yang memiliki efek anti mikroba (Laba 2009).

Spesies tanaman *Sapindus* seperti *Sapindus saponaria*, *S. rarak*, *S. emarginatus*, *S. drummonii* dan *S. delavay* pada umumnya mempunyai kandungan saponin tinggi. Salah satu jenis *Sapindus* yang mempunyai kandungan saponin tinggi dan dapat dimanfaatkan sebagai imbuhan pakan pada ruminansia adalah *Sapindus rarak* (lerak). Buah dalam bentuk hasil ekstraksi dengan methanol mengandung saponin dengan kadar tinggi daripada tanpa diekstrak. Buah lerak dalam ekstraksi metanol dapat mematikan hampir seluruh populasi protozoa hal ini dapat dijadikan agen defaunasi pada protozoa rumen. Hasil ekstraksi buah lerak menunjukkan bahwa di bagian daging buah terdapat sekitar 48,87% (Thalib 2004).

Menurut Kuman, Ambika, dan Arun (2014), di India tepatnya daerah Ghats tanaman dari family sapindaceae digunakan sebagai pengobatan baik manusia maupun hewan. Jenis sapindus yang sering digunakan di daerah ini adalah *Sapindus laurifarius*. Masyarakat India memberdayakan kandungan dari buah tanaman ini sebagai antibakteri, obat gatal-gatal pada kulit, muntah dan pengelupas. Daun *Sapindus laurifarius* juga bisa digunakan untuk meredakan nyeri sendi dan akar dapat menyembuhkan sakit reumatik.

Berbeda dengan negara lain, di China jenis tanaman *Sapindus delavayi* dan *Sapindus tomentosus* digunakan untuk manik-manik sebagai tasbih atau alat bantu dalam membaca mantra maupun doa. Tasbih ini disebut Pu Ti Zi atau manik-manik bodhi dalam bahasa china (Feife et al 2014). Jenis lain *Sapindus* yaitu *Sapindus emarginatus* biji digunakan sebagai minyak anti inflamasi dan obat pencuci darah secara tradisional. Tanaman dari jenis *Sapindus saponira* juga dapat dimanfaatkan sebagai obat kulit dan luka luar (Sati et al. 2011).

B. Kultur Jaringan

Perbanyakan tanaman secara kultur jaringan (*in vitro*) merupakan salah satu metode perbanyakan vegetatif dalam budidaya dan pengembangan lerak. Menurut Pooja et al. (2011), kultur *in vitro* dapat mempercepat proses perbanyakan, memperbaiki kualitas tanaman terkhusus pada kandungan dan daya tahan hama penyakit serta pelestarian plasma nutfah. Pengembangan perbanyakan *in vitro* *S. rarak* memiliki potensi besar dalam konservasi plasma nutfah.

Kultur jaringan merupakan salah satu teknik dalam perbanyakan tanaman secara klonal untuk perbanyakan masal. Keuntungan pengadaan bibit melalui kultur jaringan antara lain dapat diperoleh bahan tanaman yang unggul dalam jumlah banyak dan seragam, selain itu dapat diperoleh biakan steril (*mother stock*) sehingga dapat digunakan sebagai bahan untuk perbanyakan selanjutnya. Penggunaan media dasar dan zat pengatur tumbuh yang tepat merupakan faktor penting untuk mendapatkan hasil optimum (Lestari 2008).

Persentase keberhasilan kultur jaringan akan lebih besar bila menggunakan jaringan meristem. Salah satu bagian jaringan meristem tanaman terdapat pada bagian tunas. Eksplan berupa tunas pucuk merupakan eksplan paling tinggi menghasilkan planlet, terutama jika ditumbuhkan pada media tanpa auksin. Tunas sebagai eksplan harus berasal dari pohon induk yang sehat (Irawati 2000).

Perbanyakan tanaman kayu melalui kultur jaringan memiliki keunggulan lebih dibandingkan konvensional. Perbanyakan secara *in vitro* dapat menghasilkan tanaman secara cepat, berkualitas, bebas penyakit dan pengembangan plasma nutfah. Kultur jaringan efektif untuk perbanyakan *S. trifoliatum* secara masal, studi konservasi plasma nutfah dan manipulasi genetik di Indonesia. Regenerasi *S. trifoliatum* menggunakan nodus sebagai eksplan pertama (Pooja et al. 2011).

Umur bibit hasil semai yang digunakan sebagai eksplan pada multiplikasi pucuk secara signifikan mempengaruhi proliferasi pucuk pada *S. trifoliatum*. Eksplan berumur 4 minggu menunjukkan hasil proliferasi maksimal dibandingkan dengan eksplan 1, 2, 3 atau 5 minggu. Waktu 4 minggu adalah umur optimal untuk semai induksi pucuk (Pooja et al. 2011).

Perbanyakkan spesies pohon melalui kultur jaringan memiliki beberapa hambatan seperti fenolik eksudasi, kontaminasi dan ketergantungan musiman berhubungan dengan ketersediaan eksplan. Pengembangan regenerasi melalui embriogenesis somatik memiliki beberapa keterbatasan seperti persentase keberhasilan membentuk embrio somatik rendah, embrio somatik abnormal atau mengalami fase yang tidak lengkap sehingga proses perkembangan membentuk organ terhambat. Ada beberapa laporan sukses regenerasi tanaman kayu melalui embriogenesis somatik seperti *Thymus hyemalis*, *Prosopis laevigata*, *Murraya koenigii* (Reetika 2016).

Embriogenesis somatik dari jaringan daun tanaman *Sapindus* telah dilakukan oleh beberapa peneliti. Dobhal et al. (2012), telah melakukan penelitian somatik embriogenesis dari eksplan tangkai daun *Sapindus*. Regenerasi tanaman melalui embriogenesis somatik dan organogenesis telah juga dilaporkan pada berbagai spesies *Sapindus* seperti *S. trifoliatum*, *S. emarginatus*, *S. saponaria*. Embriogenesis somatik adalah regenerasi yang efisien untuk propagasi dan peningkatan tanaman elit (Stasolla dan Yeung 2003). Embriogenesis somatik terdiri dari proses regenerasi keseluruhan tanaman dari embrio somatik tunggal, yang pada gilirannya berasal dari sel tunggal (Komamine et al. 2005). Hal ini dianggap lebih baik daripada organogenesis karena sifat bipolar embrio somatik dan lebih sedikit kemungkinan penyimpangan genetik karena asal sel tunggal embrio somatik.

C. Media Tanam

Media dasar yang banyak digunakan dalam kultur jaringan antara lain media dasar MS (Murashige dan Skoog, 1962) yang dapat digunakan untuk hampir semua jenis kultur. Media MS yang dikembangkan secara luas untuk kultivasi kalus pada agar dan kultur suspensi pada media cair. Senyawa-senyawa di dalam media MS dapat terjadi pengendapan persenyawaan dilihat jelas pada media cair. Media MS mengandung 40 mM N dalam bentuk NO₃ dan 29 mM N dalam bentuk NH₄⁺. Kandungan N ini lebih tinggi daripada N total yang terdapat pada media lain (Zakaria 2010).

Tanaman yang ditanam atau dibiakkan dengan menggunakan jenis media MS mempunyai komposisi berbeda yaitu pada penggunaan bahan hormon tumbuh. Media yang digunakan biasanya terdiri dari garam mineral, vitamin, dan hormon. Bahan tambahan juga diperlukan seperti agar, gula, dan lain-lain. Zat pengatur tumbuh yang diberikan dalam media MS adalah auksin (NAA) dan sitokinin (BAP). Kedua hormon ini mempengaruhi pertumbuhan akar, tunas, dan kalus berdasarkan keseimbangan konsentrasi dari kedua ZPT tersebut yang terkandung dalam media (Trigiano and Gray 2000).

Media merupakan media dengan pemakaian sangat luas karena kelebihan memiliki kandungan nitrat, kalium, dan amonium yang tinggi untuk pertumbuhan tanaman. Kandungan garam yang tinggi dalam media tidak selalu optimal untuk pertumbuhan dan perkembangan eksplan dan plantlet *in vitro*. Tanaman *Mentha spicata* penggunaan media $\frac{1}{2}$ MS menghasilkan pertumbuhan tunas lebih baik. Pengurangan komposisi media MS pada tanaman *blueberry* menunjukkan peningkatan pembentukan tunas dan akar (Tetsumura et al. 2008). Hasil penelitian Purwanto et al. (2007), menunjukkan bahwa media $\frac{1}{2}$ MS merupakan media yang terbaik untuk induksi akar eksplan kentang.

Menurut Syahid dan Bermawie (2000), pengurangan kandungan total ion khususnya garam-garam makro dapat mengurangi pembentukan sitokinin endogen sehingga menyebabkan rasio auksin sitokinin dalam tanaman optimal. Pemakaian unsur makro yang lebih rendah pada media $\frac{1}{2}$ MS membuktikan bahwa lebih baik dalam pertumbuhan tanaman (Islam et al. 2003). Kultur *Dendrocalamus* menggunakan media MS yang dimodifikasi $\frac{1}{2}$ MS memberikan hasil yang lebih baik pada pucuk dibandingkan dengan media MS penuh.

Eksplan tunas ditanam pada media $\frac{1}{2}$ MS dan $\frac{3}{4}$ MS rata-rata jumlah akar lebih tinggi daripada media MS penuh. Syahid dan Bermawie (2000), mengungkapkan bahwa semakin rendah konsentrasi media dasar akar cenderung lebih banyak karena pengurangan total ion. Hara makro dapat mengurangi pembentukan sitokinin endogen, sehingga dalam hal ini mampu menginduksi akar. Kadar garam anorganik rendah dalam media cukup untuk pembentukan akar pada berbagai spesies tanaman sehingga kadar garam anorganik berlebih menyebabkan hambatan pemanjangan akar.

Media WPM (Woody Plant Medium, 1981) merupakan media yang biasa digunakan dalam kultur jaringan pada berbagai jenis tanaman berkayu. Kandungan nutrisi yang terdapat pada media WPM mampu dioptimalkan oleh

eksplan untuk pembentukan tunas. Menurut Pardal et al. (2004), media WPM banyak digunakan pada berbagai spesies tanaman berkayu, karena memiliki kandungan total ion rendah, tetapi kandungan sulfat tinggi. Unsur makro pada media WPM seperti unsur magnesium yang tinggi sangat mendukung dalam pertumbuhan jaringan tanaman. Media WPM mempunyai kandungan nutrisi cukup untuk mendukung pembentukan tunas.

Penggunaan media WPM dengan kandungan hara lebih rendah pada media pertumbuhan kalus sekunder dapat meningkatkan respons embriogenik kalus. Demikian juga pada tanaman *Barringtonia racemosa*, penggunaan media dasar WPM memberikan hasil lebih baik untuk mendukung perkembangan kalus dibandingkan dengan media B5 (Naing 2011). Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan media dengan kandungan hara yang lebih rendah memberikan hasil lebih baik untuk perkembangan kultur. Embriogenesis somatik tanaman anggrek *Coelogyne cristata*, media ½ MS memberikan hasil lebih baik dibandingkan dengan media MS penuh.

D. Zat Pengatur Tumbuh

Zat pengatur tumbuh tanaman berperan penting dalam mengontrol proses biologi dalam jaringan tanaman. Perannya antara lain mengatur kecepatan pertumbuhan jaringan dan mengintegrasikan bagian-bagian tersebut guna menghasilkan bentuk sebagai tanaman. Aktivitas zat pengatur tumbuh di dalam pertumbuhan tergantung dari jenis, struktur kimia, konsentrasi, genotipe tanaman serta fase fisiologi tanaman. Salah satu faktor yang menentukan keberhasilan kultur jaringan adalah zat pengatur tumbuh. *Benzil Amino Purin* (BAP) adalah zat pengatur tumbuh sitokinin yang jika dikombinasikan dengan *Naphtalene Asetic Acid* (NAA) dari golongan auksin akan mendorong pembelahan sel dan pembentukan morfogenesis tanaman (Satyavathi et al. 2004).

NAA adalah hormon sintesis dari golongan auksin dan merupakan bahan dalam perakaran produk hortikultura untuk perbanyakan tanaman secara komersial. NAA adalah agen perakaran dan digunakan untuk perbanyakan vegetatif tanaman dari batang dan pematangan daun serta digunakan untuk kultur jaringan tanaman. Hormon NAA tidak terbentuk secara alami dan sama seperti auksin yang akan menjadi racun atau menghambat pertumbuhan pada konsentrasi tinggi. NAA digunakan untuk meningkatkan pembentukan serat selulosa pada tanaman ketika dikombinasikan dengan hormon tumbuhan lain (Kurniawan 2016). Zat pengatur tumbuh auksin NAA dapat berpengaruh

terhadap pembesaran sel, pemanjangan sel, pembentukan kalus dan akar adventif namun juga dapat menghambat pembentukan tunas aksilar. Penggunaan auksin konsentrasi rendah akan memacu pembentukan akar adventif, sedangkan auksin dalam konsentrasi tinggi mendorong pembentukan kalus (Rainiyati et al. 2009).

Hormon BAP adalah salah satu sitokinin sintesis yang mempunyai peran fisiologis untuk mendorong pembelahan sel, sehingga penambahan BAP ke dalam media dapat merangsang pembentukan tunas majemuk. Pengaruh sitokinin pada berbagai proses fisiologis diduga pada tingkat pembuatan protein mengingat kesamaan struktur sitokinin dengan adenine yang merupakan komponen dari DNA dan RNA. Sitokinin merangsang pembelahan sel melalui peningkatan laju sintesis protein, beberapa di antara protein ini dapat berperan sebagai enzim yang dibutuhkan untuk terjadinya mitosis (Trias et al. 2009).

Zat pengatur tumbuh sitokinin BAP yang berperan dalam pengaturan pembelahan sel dan morfogenesis. Fungsi dari aktivitas utama sitokinin adalah untuk mendorong pembelahan sel, menginduksi pembentukan tunas adventif dan dalam konsentrasi tinggi menghambat inisiasi akar. Sitokinin juga aktif menghambat perombakan protein dan klorofil dan menghambat penuaan (*senescence*). Dalam kultur jaringan jenis sitokinin yang sering dipakai adalah BAP dan kinetin (Rainiyati et al. 2009).

Penggunaan zat pengatur tumbuh di dalam kultur jaringan tergantung pada tujuan atau arah pertumbuhan tanaman yang diinginkan. Metode kultur jaringan sangat diperlukan penambahan zat pengatur tumbuh seperti auksin dan sitokinin. NAA yang merupakan golongan auksin untuk perangsang akar dan sebagai sitokinin untuk merangsang tunas (Triningsih et al. 2013). Pemberian pada konsentrasi yang hampir tepat sama antara auksin dan sitokinin akan menghasilkan kalus. Sitokinin lebih besar dari auksin akan menginduksi tunas, sedangkan konsentrasi auksin lebih besar dari sitokinin akan menginduksi perakaran yang lebih cepat. Keseimbangan penggunaan zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin yang sesuai memberikan pengaruh yang sangat besar untuk menghasilkan plantlet dari tanaman yang hendak dikulturkan.

E. Hipotesis

1. Kandungan rendah garam makro mikro pada media WPM mampu mempermudah penyerapan hara sehingga memberikan hasil terbaik dalam perbanyakan lerak secara *in vitro*
2. Konsentrasi NAA 0,5 ppm optimal merangsang pertumbuhan dalam perbanyakan lerak secara *in vitro*
3. Media WPM dengan konsentrasi NAA 0,5 ppm merupakan kombinasi yang sesuai dalam perbanyakan lerak secara *in vitro*.

