

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang memiliki keanekaragaman hayati yang tinggi. Indonesia mempunyai 30.000 jenis tumbuhan berbunga yang sebagian besar masih tumbuh liar di hutan. Tumbuhan berbunga tersebut kurang lebih 4.000 jenis yang diketahui telah dimanfaatkan langsung oleh penduduk dan hanya seperempatnya yang telah dibudidayakan bahkan mungkin kurang dari 10 persennya (Uji, 2007).

Genus *Syzygium* merupakan jenis buah-buahan asli Indonesia yang tersebar terutama di Pulau Jawa. *Syzygium* adalah salah satu marga dari suku *Myrtaceae* yang mempunyai jumlah jenis terbanyak (lebih dari 300 jenis) di Indonesia. Pulau Jawa merupakan salah satu pulau yang mempunyai suku *Myrtaceae* sekitar 60 jenis (Sunarti, 2015). Salah satu genus *Syzygium* yang masih jarang dibudidayakan adalah kupa (*Syzygium polycephalum*).

Tanaman kupa ini tersebar di sebagian Pulau Jawa, Bali dan Kalimantan tetapi yang paling banyak berada di daerah Pulau Jawa. Penyebaran tanaman kupa masih sedikit sehingga di luar Pulau Jawa, Bali dan Kalimantan belum banyak ditemukan. Tanaman kupa mengandung saponin dan flavonoida (pada daun dan kulit buah) serta polifenol pada kulit batangnya (Mudiana, 2010).

Bagian tanaman yang dimanfaatkan salah satunya yaitu buah. Buah kupa bisa dimakan seperti halnya buah lain namun hanya sedikit orang yang

mengkonsumsinya sehingga tidak diproduksi dalam skala besar. Buah kupa sedikit dikonsumsi karena minimnya informasi mengenai buah kupa dan manfaatnya.

Tanaman kupa merupakan tanaman berkeping dua (dikotil) yang dapat diperbanyak dengan cara mencangkok batangnya, bisa juga dengan menanam bijinya. Namun, perbanyak dengan cara tersebut dibutuhkan waktu yang lama dan bibit yang tidak seragam. Teknologi budidaya untuk perbanyak bibit tanaman kupa diperlukan agar menghasilkan bibit dalam jumlah besar dalam waktu yang singkat serta memiliki mutu yang baik dan untuk melindungi tanaman yang semakin hari keberadaannya sedikit dan terancam punah (Mudiana, 2010).

Sesuai dengan tujuan mikropopagasi secara *in vitro* yaitu memperbanyak tanaman yang keberadaannya sudah mulai jarang ditemui dalam rangka konservasi tanaman maka dilakukan alternatif yaitu metode perbanyak tanaman dengan kultur *in vitro*. Penggunaan metode ini diharapkan mampu menghasilkan tanaman dalam skala besar dengan waktu yang relatif cepat serta kualitas tanaman yang dihasilkan menjadi lebih baik. Menurut Gunawan (1992) melalui kultur jaringan kebutuhan ketersediaan bibit tanaman dalam jumlah yang banyak dapat terpenuhi. Sudarmonowati *et al.*, (2002) menambahkan bahwa perbanyak tanaman dengan teknik kultur jaringan (*in vitro*) telah banyak dilakukan untuk tanaman yang bernilai ekonomi tinggi atau tanaman yang tergolong langka dan sulit diperbanyak dengan cara konvensional. Teknik kultur jaringan dapat berhasil dengan baik apabila syarat-syarat yang diperlukan terpenuhi. Syarat-syarat

tersebut meliputi eksplan, genotip tanaman, media tumbuh, zat pengatur tumbuh dan lingkungan fisik (Nursetiadi, 2008).

Tingkat keberhasilan dalam pelaksanaan kultur jaringan sangat ditentukan oleh beberapa faktor, terutama sterilisasi dan komposisi media yang digunakan. Sterilisasi bahan kultur dapat dilakukan dengan berbagai cara, seperti penggunaan berbagai bahan sterilan maupun perlakuan secara fisik (pemanasan atau pembakaran pada suhu tertentu). Bahan sterilan yang sering digunakan diantaranya deterjen, bakterisida dan fungisida. Menurut Devy dan Sastra (2006), penggunaan bahan sterilan fungisida dan bakterisida, masing-masing berkonsentrasi  $2 \text{ g L}^{-1}$  selama 24 jam, Clorox 10% selama 15 menit dan selanjutnya eksplan direndam kembali dalam larutan Clorox 5% selama 20 menit dapat menekan tingkat kontaminasi pada kultur *in vitro* tanaman jahe. Selanjutnya hasil penelitian Budiono (2003) pada multiplikasi *in vitro* tunas bawang merah kultivar bawang Sumenep menunjukkan bahwa pada sterilisasi eksplan menggunakan bahan kimia sterilan berupa deterjen, Dithane M-45 ® dan Agrept ® masing-masing  $4 \text{ g L}^{-1}$  selama 24 jam dan Chlorox 10% tambah 5 tetes Tween-20 selama 20 menit dapat menekan tingkat kontaminasi sehingga eksplan sehat yang dapat mencapai 90%.

Media dasar dan zat pengatur tumbuh merupakan faktor penentu dalam perbanyakan melalui kultur jaringan. Menurut Purnamaningsih (2002), faktor penting dalam induksi dan perkembangan embriogenesis somatik adalah komposisi nutrisi pada media kultur. Vajrabhaya *et al.*, (1988) menyatakan bahwa

zat pengatur tumbuh paling penting yang terlibat dalam induksi embrio somatik adalah auksin eksogen yang terkandung dalam media.

Media yang sering digunakan dalam kultur jaringan adalah MS (*Murashige and Skoog*). Media MS dapat digunakan untuk hampir semua jenis kultur, terutama tanaman herbaceous (Hartman dan Kester, 1983; Gunawan, 1992). Selain itu ada media WPM (*Woody Plant Medium*) sering digunakan untuk tanaman berkayu. Gunawan (1992) menyatakan bahwa media WPM (*Woody Plant Medium*) yang dikembangkan oleh Llyod dan Mc Cown pada tahun 1981, merupakan media dengan konsentrasi ion yang rendah. Media ini konsisten dengan media untuk tanaman berkayu yang dikembangkan oleh ahli lain, tetapi sulfat yang digunakan lebih tinggi dari sulfat pada media tanaman berkayu lain.

Penelitian yang dilakukan Prigiani (2015) menyatakan bahwa respon pertumbuhan terbaik pada eksplan tunas kupa ditandai dengan jumlah rata-rata tunas tertinggi sebesar 6,00 dan jumlah rata-rata daun sebesar 7,00 terdapat pada konsentrasi BAP 1,5 ppm + NAA 0,3 ppm pada media WPM. Selanjutnya Tardiansyah (2015) melakukan penelitian dengan eksplan dan tanaman yang sama yaitu tunas kupa yang menggunakan media dasar MS dengan menambahkan BAP 2 ppm + IBA 0,8 ppm memiliki pertumbuhan tunas mencapai 40 % dalam waktu 7 MST.

Komposisi media yang paling penting diperhatikan dalam kultur jaringan khususnya induksi kalus adalah penambahan zat pengatur tumbuh, dimana kalus terbentuk karena pembelahan sel yang tidak terkendali. Pembelahan sel-sel pada kalus dipacu oleh zat pengatur tumbuh yang ditambahkan pada media kultur

(Gunawan, 1992). 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) diketahui sebagai zat pengatur tumbuh dari golongan auksin yang kuat atau efektif untuk pembentukan kalus dan embrio somatik. Keberhasilan perbanyakan tanaman jambu merah (*Syzygium jambos* L.) melalui tahap induksi kalus dilaporkan oleh Prashanta *et al.*, (2003) bahwa perkembangan dan pertumbuhan kalus yang bagus pada jambu merah (*Syzygium jambos* L.) adalah pada media  $\frac{1}{4}$  MS dilengkapi dengan zat pengatur tumbuh 2,4-D pada konsentrasi 2 ppm menghasilkan kalus berwarna hijau dan lebar kalus  $> 1,5$  cm. Selanjutnya hasil penelitian Trina (2002) menunjukkan bahwa pada tahap inisiasi kalus persentase kultur berkalus 100% diperoleh pada media (MS + 2,4-D 0,5 ppm) dan (MS + 2,4-D 1,5 ppm). Penggunaan berbagai bahan sterilan guna mencegah gangguan kontaminan pada eksplan daun tanaman kupa, demikian juga pada induksi kalus dari eksplan daun kupa yang menggunakan 2,4-D belum pernah dilaporkan sehingga dipandang perlu untuk melakukan penelitian mengenai sterilisasi dan induksi kalus kupa secara *in vitro*. Tujuan induksi kalus kupa secara *in vitro* ini adalah untuk mengetahui bahan sterilan yang lebih baik untuk sterilisasi eksplan daun kupa dan untuk menentukan konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4-D yang baik dalam menginduksi kalus dari eksplan daun kupa.

## 1.2 Rumusan Masalah

1. Teknik sterilisasi manakah yang paling efektif untuk mendapatkan eksplan tanaman kupa (*Syzygium polycephalum*)?

2. Bagaimana pengaruh pemberian 2,4-D terhadap pertumbuhan eksplan tanaman kupa (*Syzygium polycephalum*) secara *in vitro*?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Mengetahui teknik sterilisasi yang paling efektif untuk mendapatkan eksplan tanaman kupa (*Syzygium polycephalum*).
2. Mengetahui pengaruh pemberian 2,4-D terhadap pertumbuhan eksplan tanaman kupa (*Syzygium polycephalum*) secara *in vitro*.

### 1.4 Kegunaan Penelitian

Kegunaan penelitian ini adalah :

1. Menambah pengetahuan dan ilmu yang berkaitan dengan cara perbanyakan tanaman kupa (*Syzygium polycephalum*) secara *in vitro*, sehingga dapat menjadi acuan untuk penelitian lebih lanjut.
2. Memberikan rekomendasi teknik sterilisasi dan jenis eksplan terbaik untuk mendapatkan eksplan yang steril, serta berbagai konsentrasi 2,4-D yang dapat menumbuhkan kalus tercepat pada tahap induksi kalus agar bisa dimanfaatkan untuk memperbanyak penyediaan bibit tanaman kupa.

### 1.5 Kerangka Pemikiran

Kupa merupakan tanaman khas Pulau Jawa yang keberadaannya terancam punah. Perbanyakan tanaman kupa secara *in vivo* atau di lapangan dibutuhkan

waktu yang lama dan bibit yang tidak seragam. Teknik perbanyakan kupa dengan kultur jaringan diharapkan dapat menjadi alternatif untuk melindungi atau melestarikan tanaman kupa (Mudiana, 2010).

Eksplan yang digunakan pada teknik kultur jaringan harus bebas dari kontaminan, seperti fungi dan bakteri. Teknik sterilisasi permukaan banyak digunakan untuk menghilangkan kontaminan yang terdapat pada permukaan eksplan. Selama proses sterilisasi, eksplan harus tetap hidup dan hanya kontaminan yang dieliminasi (Oyebanji *et al.*, 2009). Oleh karena itu, sterilisasi permukaan dilakukan dengan merendam eksplan dalam larutan disinfektan dengan konsentrasi tertentu selama periode tertentu.

Sterilan, atau disinfektan, yang biasa digunakan untuk sterilisasi permukaan eksplan adalah natrium hipoklorit ( $\text{NaOCl}$ ) atau kalsium hipoklorit ( $\text{Ca}[\text{OCl}]_2$ ) (Dodds, 1993). Senyawa hipoklorit sangat efektif dalam mengurangi kontaminasi pada teknik mikropropagasi (Bhojwani dan Razdan, 1996; Oyebanji *et al.*, 2009). Penggunaan  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  atau  $\text{NaOCl}$  mempunyai kelebihan dan kekurangan dan memberikan hasil yang berbeda untuk setiap jenis eksplan yang digunakan. Sterilan  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  memiliki pH yang stabil namun dapat merusak jaringan pada bagian pomotongan eksplan sedangkan  $\text{NaOCl}$  memiliki pH yang tidak stabil, bersifat toksik, namun tidak merusak jaringan. Sterilan  $\text{NaOCl}$  digunakan sebagai sterilan dalam berbagai teknik sterilisasi eksplan dengan konsentrasi dan lama perendaman yang berbeda (Dumani *et al.*, 2007; Khan *et al.*, 2007; Peiris *et al.*, 2012; Goswami dan Handique, 2013; Olowe *et al.*, 2014).



Hasil penelitian Prigiani (2015) menyatakan bahwa sterilisasi eksplan tunas kupa yang terbaik yaitu perendaman vitamin C 0,75% selama 30 menit, detergen 2,5% selama 30 menit, HgCl<sub>2</sub> 1% selama 20 menit, perendaman dalam fungisida secara bertingkat yakni 2% selama 60 menit dan fungisida 1% selama 60 menit serta perendaman dengan bakterisida 2% selama 90 menit NaOCl 1% selama 3 menit, yang menghasilkan presentase eksplan hidup sebesar 60%.

Menurut Tardiansyah (2015), sterilisasi eksplan tunas kupa dengan menggunakan surfaktan 2,5 % selama 30 menit, alkohol 70 % selama 15 menit, fungisida 2,5 % selama 80 menit, bakterisida 2,5 % selama 60 menit, asam sitrat 1 % selama 10 menit, bayclin (NaOCl) 5 % selama 5 menit, bayclin (NaOCl) 10 % selama 5 menit, bayclin (NaOCl) 15 % selama 5 menit dan HgCl 1 % selama 5 menit mampu menumbuhkan eksplan tunas sebesar 75%.

Perbanyakan tanaman kupa secara *in vitro* ditentukan oleh banyak faktor diantaranya komposisi media, yang didalamnya terdapat zat pengatur tumbuh. Media kultur merupakan salah satu faktor penentu keberhasilan perbanyakan tanaman secara kultur jaringan. Berbagai komposisi media kultur telah diformulasikan untuk mengoptimalkan pertumbuhan dan perkembangan tanaman yang dikulturkan (Yusnita, 2003).

Sebelum membuat medium, maka terlebih dahulu kita harus menentukan medium apa yang akan kita buat. Jenis medium dengan komposisi unsur kimia yang berbeda dapat digunakan untuk media tumbuh dari jaringan tanaman yang berbeda pula (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Media yang dikhususkan untuk tanaman berkayu yaitu media WPM. Media WPM merupakan media dengan

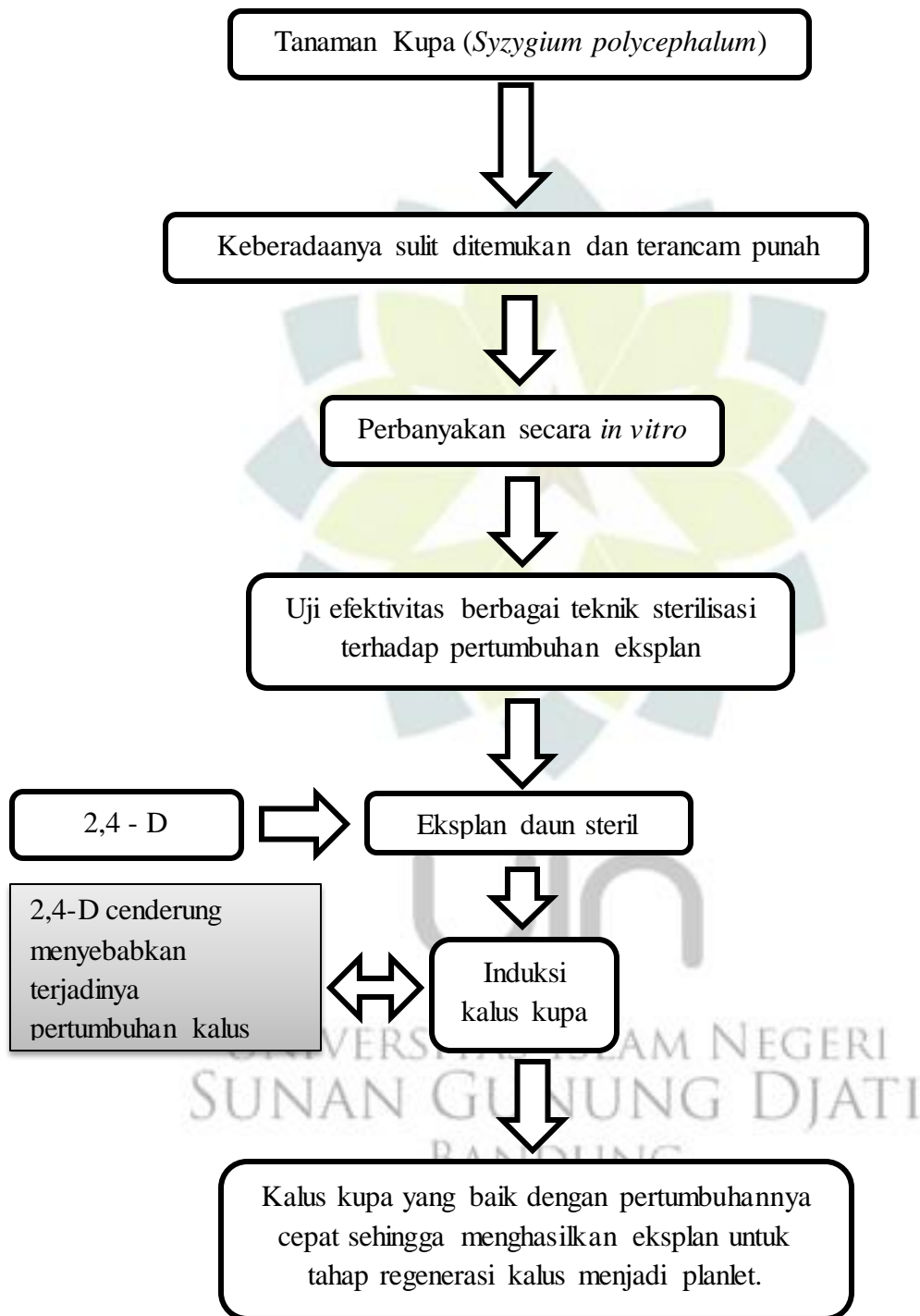


konsetrasi ion yang lebih rendah dari media MS. Media WPM diperuntukkan untuk tanaman berkayu (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Penambahan zat pengatur tumbuh dalam media tanam kultur jaringan dapat meningkatkan atau mempercepat pertumbuhan dalam media. Zat pengatur tumbuh yang sering digunakan adalah auksin dan sitokinin. Auksin digunakan untuk pertumbuhan organogenesis termasuk pertumbuhan akar (panjang akar, jumlah akar), sedangkan sitokinin berperan besar terhadap pertumbuhan tunas (George dan Sherrington, 1984).

Auksin merupakan salah satu jenis hormon yang dapat memacu pertumbuhan tanaman dengan meningkatkan pemanjangan sel dan perpanjangan batang seperti halnya diferensiasi sel (Tarabily *et al.*, 2003). Salah satu zat pangatur tumbuh yang digolongkan auksin adalah asam 2,4-D. Wetherell (1982) menyebutkan bahwa peran auksin adalah merangsang pembelahan dan perbesaran sel yang terdapat pada pucuk tanaman dan menyebabkan pertumbuhan pucuk-pucuk baru. Penambahan auksin dalam jumlah yang lebih besar, atau penambahan auksin yang lebih stabil, seperti asam 2,4-D cenderung menyebabkan terjadinya pertumbuhan kalus dari eksplan dan menghambat regenerasi pucuk tanaman.

Prashanta *et al.* (2003), melaporkan bahwa perkembangan dan pertumbuhan kalus yang bagus pada jambu merah (*Syzygium jambos* L.) adalah pada media  $\frac{1}{4}$  MS dilengkapi dengan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan NAA 2 ppm menghasilkan kalus berwarna hijau dan lebar kalus  $> 1,5$  cm. Media yang ditambahkan 2,4-D 1 ppm persentase eksplan berkalus sebesar 40% dan warna kalus hijau.



### 1.6 Hij

Gambar 1. Alur Kerangka Berpikir

1. Terdapat teknik sterilisasi yang paling efektif untuk mendapatkan eksplan tanaman kupa.

2. Terdapat satu konsentrasi 2,4-D yang efektif terhadap induksi kalus tanaman kupa (*Syzygium polycephalum*) secara *in vitro*.

