

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA DAN HIPOTESIS

2.1 Tanaman Kunyit Putih

2.1.1 Klasifikasi Kunyit Putih

Klasifikasi kunyit putih (*Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe) menurut Tjitrosoepomo (2000), adalah sebagai berikut:

- Divisi : Spermatophyta
Sub Divisi : Angiospermae
Kelas : Monocotyledonae
Ordo : Zingiberales
Famili : Zingiberaceae
Genus : *Curcuma*
Spesies : *Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe

2.1.2 Biologi Kunyit Putih

Kunyit putih (*C. zedoaria* (Berg.) Roscoe) berasal dari India dan Cina. Di Indonesia, tanaman ini disebut kunyit putih, temu putih atau kunir putih. Rimpang kunyit putih akan berkembang dengan baik bila ditanam pada tanah yang gembur, subur, mengandung bahan organik tinggi dan kondisi drainase yang baik. Biasanya berada pada ketinggian 250–1000 dpl, dengan cahaya penuh maupun di bawah naungan. Suhu udara yang dibutuhkan adalah 25–30°C (Syukur, 2001).

Kunyit putih dapat mencapai tinggi 2 meter. Daun berbentuk lanset, ujung runcing, pangkal meruncing, tepi rata, warna tepi ibu tulang daun ungu, warna permukaan atas daun hijau muda sampai hijau tua, panjang daun dapat mencapai 75 cm. Bunga berbentuk malai, warna putih kemerah-merahan atau merah muda. Rimpang berwarna putih, warna daging putih sampai kuning muda, rasa daging pahit (Syukur, 2003).

Rimpangnya mengandung kurkuminoid, minyak atsiri, polisakarida dan golongan lain. Kurkuminoid meliputi kurkumin, demetoksikurkumin, bisdemetoksikurkumin dan 1,7-bis (4-hidroksifenil)-1,4,6-heptatrien-3-on. Minyak atsiri mengandung monoterpen dan seskuiterpen. Monoterpen terdiri dari monoterpen hidrokarbon α -pinen, D-kamfen, monoterpen alkohol, D-borneol, monoterpen keton, D-kamfor, monoterpen oksida dan diseol. Seskuiterpen terdiri dari bisabolan, germakran, eudesman, guaian, dan golongan spiro-lakton. Kandungan lainnya meliputi etil-p-metoksisinamat, 3,7-dimetilin dan 5-asam karboksilat (Syukur, 2003).

2.2 Kultur *In Vitro* atau Kultur Jaringan

Kultur jaringan adalah teknik budidaya sel, jaringan atau organ tanaman dalam suatu lingkungan yang terkendali dan dalam keadaan aseptis (Santoso dan Nursandi, 2003). Pelaksanaan teknik kultur jaringan ini berdasarkan teori sel yang dikemukakan oleh Schleiden dan Schwann, yaitu bahwa sel mempunyai kemampuan totipotensi. Totipotensi adalah kemampuan setiap sel, dari mana saja sel tersebut

diambil, apabila diletakkan dalam lingkungan yang sesuai akan tumbuh menjadi tanaman yang sempurna (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Menurut George and Sherrington (1984), pertumbuhan dan perkembangan tanaman secara kultur jaringan ditentukan oleh beberapa faktor yang kompleks seperti eksplan, media dan faktor lingkungan.

2.2.1 Eksplan

Eksplan yaitu bagian tanaman yang digunakan sebagai bahan inokulum awal yang ditanam dalam media, kemudian akan menunjukkan pertumbuhan dan perkembangan tertentu. Bagian tanaman yang digunakan sebagai eksplan sebaiknya merupakan bagian yang mempunyai sel aktif membelah, berasal dari tanaman induk yang sehat dan berkualitas (Gunawan, 1995).

2.2.2 Media

Media kultur yang memenuhi syarat adalah media yang mengandung nutrisi makro dan nutrisi mikro dalam kadar dan perbandingan tertentu, serta sumber tenaga. Seringkali juga mengandung satu atau dua macam vitamin dan zat pengatur tumbuh. Kadang-kadang diperlukan penambahan zat lain seperti *yeast*, ekstrak taoge atau cairan tanaman sebagai sumber zat perangsang pertumbuhan. Selain itu, perlu ditambah agar sehingga terjadi kontak antara jaringan tanaman dengan media dan juga dengan udara (Wetherell, 1982).

1. Air

Air merupakan komponen yang penting dalam pertumbuhan karena 95% dari medium mengandung air. Untuk tujuan penelitian, digunakan air destilasi. Kultur yang kurang berhasil kadang disebabkan oleh pemakaian air yang kurang murni. Air sumur sebaiknya tidak digunakan karena mengandung terlalu banyak kontaminan organik, anorganik dan mikroorganisme (Pierik, 1998).

2. Larutan Dasar Garam Mineral

Makronutrien adalah unsur yang diperlukan dalam jumlah besar, meliputi C, H, O, N, P, K, Ca, Mg dan S, sedangkan mikronutrien yaitu unsur yang diperlukan dalam jumlah kecil, meliputi Fe, Mn, Zn, Cu, Bo, Mo, Cl. Unsur-unsur makro biasanya diberikan dalam bentuk NH_4NO_3 , KNO_3 , $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dan KH_2PO_4 , sedangkan unsur mikro biasanya diberikan dalam bentuk $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, H_3BO_3 , KJ, $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dan $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (George and Sherrington, 1984).

3. Zat-Zat Organik selain Zat Pengatur Tumbuh

Karbohidrat yang sering ditambahkan ke media adalah sukrosa, yaitu berkisar antara 2-4% (Narayanaswamy, 1994). Glukosa dan fruktosa kadang ditambahkan. Menurut Pierik (1989), karbohidrat adalah komponen yang penting untuk pertumbuhan dan perkembangan.

Vitamin berfungsi sebagai katalisator berbagai proses metabolisme. Vitamin yang kadang ditambahkan adalah tiamin, asam nikotinat, piridoksin dan mio-inositol. Tiamin adalah vitamin yang dibutuhkan oleh semua sel untuk pertumbuhan (Torres, 1989). Penambahan mio-inositol bertujuan untuk

membantu pertumbuhan dan diferensiasi jaringan (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Sumber nitrogen organik dalam media kultur diantaranya adalah asam amino, glutamin dan asparagin. Sumber nitrogen organik dapat dianggap tidak penting, tetapi sering digunakan karena diperlukan saat inisiasi kalus atau dapat digunakan untuk mempertahankan kultur kalus (Santoso dan Nursandi, 2003).

Pelengkap organik misalnya hidrolisat protein, ekstrak ragi dan air kelapa (endosperm cair) dapat mensuplai senyawa yang dapat merangsang pertumbuhan sel, walaupun umumnya sel dapat tumbuh baik dalam medium tanpa pelengkap tersebut (Wetter and Constabel, 1991).

4. Zat Pengatur Tumbuh

Zat pengatur tumbuh tanaman adalah senyawa organik bukan nutrisi yang dalam konsentrasi rendah mampu mendorong, menghambat atau secara kualitatif mengubah pertumbuhan dan perkembangan eksplan (Santoso dan Nursandi, 2003).

a. Auksin

Indol Asam Asetat (IAA) merupakan auksin alami dan biasa ditambahkan pada konsentrasi 0.01–10 mg/l. Indol Butiric Acid (IBA), Naftalen Asetic Acid (NAA) merupakan auksin sintetik. Auksin dapat menyebabkan pemanjangan sel dan pembengkakan jaringan, pembelahan sel (membentuk kalus) dan membentuk akar adventif dan aksiler, juga sering menghambat embriogenesis pada kultur antera (Pierik, 1998).

b. Sitokinin

Sitokinin sering digunakan untuk menstimulasi pertumbuhan dan perkembangan. Kinetin, BA (Benzyl-adenin), 2iP (N^6 -(2-isopentil) adenin), dan PBA (6-(benzylamino)-9-(2-tetrahidropiranyl)-9H-purin) umum digunakan. Sitokinin berfungsi merangsang pembelahan sel khususnya jika bersamaan dengan auksin. Pada konsentrasi tinggi, dapat menginduksi pembentukan tunas, tetapi menghambat formasi akar. Sitokinin meningkatkan pembentukan tunas aksilar dengan mengurangi dominansi apikal (Pierik, 1998).

5. Bahan Pekat

Agar sebagai agen pekat untuk menyiapkan media yang padat dan semipadat. Agar mempunyai beberapa keuntungan, yaitu bisa bercampur dengan air membentuk gel yang larut pada suhu 60-100°C dan memadat pada suhu 45°C, stabil pada semua suhu inkubasi, tidak bereaksi dengan komponen media dan tidak dapat dipecah oleh enzim. Konsentrasi agar yang sering digunakan adalah 0,5 dan 1% (Torres, 1989).

6. Arang Aktif

Menurut Pierik (1998), arang aktif merupakan kayu yang telah dipanaskan selama beberapa jam dengan uap atau udara kering. Biasanya arang aktif dibuat dari arang tempurung dengan pemanasan pada suhu 800-1000°C dan tekanan tinggi serta tanpa oksigen (Goldberg, 1976). Pada kondisi ini akan terbentuk rongga yang sangat halus dengan jumlah yang sangat banyak, sehingga luas permukaan arang tersebut menjadi besar (Anonim, 2002). Satu gram arang aktif mempunyai luas permukaan 1.100-1.150 m² (Cheremisinoff, 1978).

Arang aktif cenderung bersifat nonpolar, sehingga lebih mudah mengadsorpsi senyawa organik daripada senyawa anorganik. Senyawa yang dapat diadsorpsi oleh arang aktif tergantung pada konsentrasi senyawa dalam larutan dan kelarutannya dalam air. Semakin mudah larut dalam air, semakin sukar diadsorpsi oleh arang aktif (Cheremisinoff, 1993).

Arang aktif bukan sebagai zat pengatur tumbuh, biasanya bubuk arang aktif ditambahkan pada media kultur jaringan untuk mengadsorpsi senyawa yang bersifat toksik, mencegah penghambatan pertumbuhan, mengawali morfogenesis dan mengawali pembentukan tunas (George and Sherrington, 1984).

2.2.3 Lingkungan Tumbuh

1. Cahaya

Penyinaran kultur biasanya diberikan dengan menggunakan lampu fluoresensi dengan intensitas antara 600-1000 lux. Lama penyinaran dianjurkan mengikuti kebutuhan cahaya tanaman di lapangan. Panjang penyinaran dapat berlangsung 10-24 jam (Gunawan, 1995).

2. pH

pH adalah nilai yang menyatakan derajat keasaman atau kebasahan dari larutan. Meskipun nilai pH larutan berubah selama kultur, pH ditentukan sebelum diautoklaf. pH diatur dengan menggunakan pH meter dan dengan menambahkan NaOH atau HCl (Narayanaswamy, 1994). Sel tanaman yang dikembangkan secara kultur jaringan mempunyai toleransi pH yang sempit dengan titik optimal antara 5-6 (Yusnita, 2003).

3. Suhu

Beberapa penelitian *in vitro* menyebutkan bahwa suhu konstan yang baik adalah antara 20-28°C. Suhu optimum dapat dicapai bila digunakan lampu fluoresensi secara efisien dan ruangan yang menggunakan *air conditioner* (Wetherell, 1982).

4. Kelembaban Relatif

Menurut George and Sherrington (1984), kelembaban relatif di ruang kultur sekitar 70%. Bila kelembaban ruangan rendah, penguapan air dari media kultur akan terlalu besar. Namun, kelembaban ruang kultur yang tinggi akan menaikkan derajat kontaminasi (Wetherell, 1982).

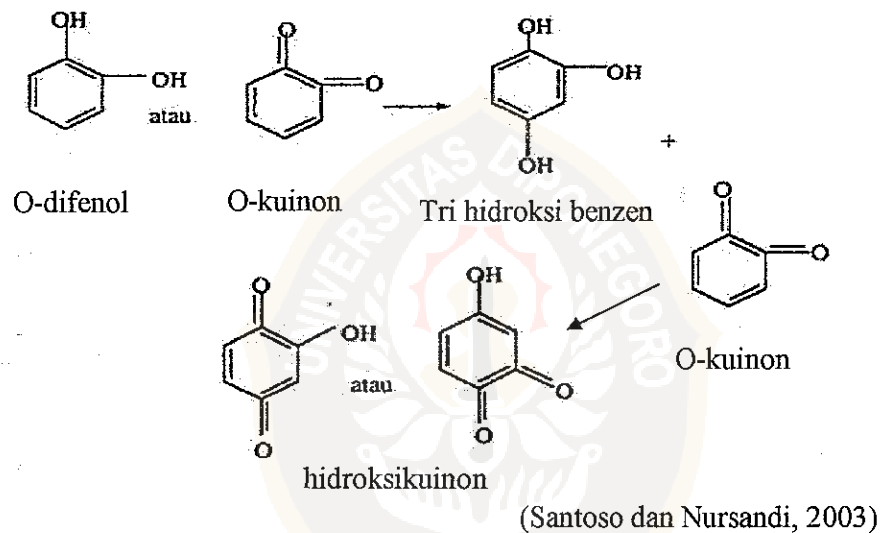
2.3 Pencoklatan

Tanaman terutama dari spesies tropik, mengandung konsentrasi fenol yang cukup tinggi, yang akan teroksidasi bila jaringan terluka. Eksplan secara umum berubah menjadi coklat atau hitam setelah diisolasi. Apabila hal ini terjadi maka pertumbuhan terhambat dan jaringan biasanya akan mati (George and Sherrington, 1984).

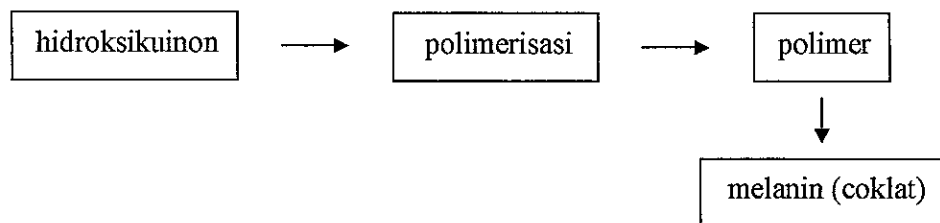
Pencoklatan adalah suatu karakter munculnya warna coklat atau hitam sehingga pertumbuhan dan perkembangan eksplan menjadi terhambat. Proses pencoklatan bisa terjadi karena enzimatik. Enzim yang berperan adalah polifenoloksidase, yaitu suatu enzim kompleks. Enzim kompleks tersebut diantaranya adalah fenol hidrosilase, kresolase dan katekolase. Untuk terjadinya reaksi yang dikatalisis oleh enzim tersebut, selain harus ada substrat juga harus

tersedia gugus prostetik Cu^{2+} dan O_2 sebagai akseptor hidrogen. Substrat yang biasanya berperan adalah p-difenol, monofenol, flavonoid, tanin, dan sebagainya (Santoso dan Nursandi, 2003).

Toksisitas fenol terutama disebabkan karena fenol membentuk ikatan hidrogen dengan protein yang ireversibel. Penghambatan pertumbuhan yang tidak dapat diperbaiki lagi terjadi ketika fenol teroksidasi menjadi kuinon yang sangat aktif. Senyawa ini lalu mengoksidasi protein untuk membentuk melanin (George and Sherrington, 1984).



Gambar 1. Skema proses terbentuknya hidroksikuinon



(Santoso dan Nursandi, 2003)

Gambar 2. Skema terbentuknya melanin dari hidroksikuinon

Menurut George and Sherrington (1984), untuk mengatasi pencoklatan dapat dilakukan dengan menghilangkan senyawa fenol, yaitu dengan cara membilas dengan akuades, mengadsorpsi dengan arang aktif atau mengadsorpsi dengan *polyvinylpirolidone* (PVP). Disamping itu juga bisa dilakukan dengan penambahan antioksidan, penambahan EDTA, pengaturan pH rendah atau dengan penggunaan ruang gelap.

2.4 Pertumbuhan dan Multiplikasi

Pertumbuhan adalah proses dalam kehidupan tanaman yang mengakibatkan perubahan ukuran tanaman semakin besar dan juga menentukan hasil tanaman. Pertambahan ukuran tanaman secara keseluruhan merupakan hasil dari pertambahan ukuran bagian organ-organ tanaman akibat dari pertambahan ukuran jaringan sel yang dihasilkan oleh pertambahan ukuran sel. Pertumbuhan berfungsi sebagai proses yang mengolah masukan substrat menghasilkan produk pertumbuhan. Pada organisme multiseluler, pertambahan meliputi volume, bobot, jumlah sel, banyaknya sitoplasma dan tingkat kerumitan (Sitompul dan Guritno, 1995).

Pertumbuhan dapat diukur dengan beberapa parameter, diantaranya terdapat dua parameter utama yaitu pertambahan volume dan pertambahan berat. Pertambahan volume biasanya diukur dengan pertambahan panjang, tinggi, lebar, garis tengah atau luas. Pertambahan berat biasanya diketahui dengan mengukur berat basah dan berat kering (Salisbury dan Ross, 1995).

Berat basah adalah berat bahan tanaman setelah dipanen dan belum mengalami pengurangan air yang cukup besar. Berat kering bahan tanaman diperoleh dengan cara mengeringkan bahan tanaman selama 24-48 jam dan suhu 70-80°C sampai didapatkan berat yang konstan (Salisbury dan Ross, 1995).

Multiplikasi pada prinsipnya bertujuan untuk menggandakan bahan tanaman. Pada tahap ini perbanyak tunas dirangsang, umumnya dengan mendorong percabangan tunas lateral atau merangsang pembentukan tunas adventif (Yusnita, 2003). Menurut Hendaryono dan Wijayani (1994), pembentukan tunas dipengaruhi oleh zat pengatur tumbuh yang ditambahkan. Pemberian sitokinin dengan kadar yang relatif tinggi, menyebabkan diferensiasi cenderung ke arah pembentukan tunas.

2.5 Hipotesis

Kunyit putih mempunyai kandungan fenol yang tinggi. Fenol tersebut akan dikeluarkan ke lingkungan jika jaringan dilukai, dan dioksidasi oleh enzim polifenoloksidase menjadi senyawa kuinon yang sangat aktif. Quinon akan berikatan dengan protein membentuk melanin yang menyebabkan eksplan berwarna coklat dan akhirnya mati. Arang aktif mempunyai kemampuan untuk mengadsorpsi fenol. Melalui pernyataan tersebut, dapat ditarik suatu hipotesis bahwa penambahan arang aktif sampai batas tertentu, akan menyebabkan semakin sedikit pencoklatan dan meningkatkan pertumbuhan eksplan mata tunas kunyit putih secara *in vitro*.