

BAB VI

PEMBAHASAN

Dari analisis hasil penelitian diketahui bahwa penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP pada medium MS (Murashige dan Skoog) berpengaruh terhadap berat basah dan tidak berpengaruh terhadap berat kering kalus eksplan ibu tangkai daun Purwoceng (*Pimpinella alpina*). Konsentrasi 2,4-D dan BAP yang ditambahkan pada eksplan dalam medium mampu membentuk kalus, namun dengan konsentrasi 2,4-D 1; 2; 3 dan BAP 0; 0,5; 1 pada penelitian ini tidak mampu meningkatkan pertumbuhan kalus.

Pembentukan kalus disebabkan karena eksplan yang merupakan sel-sel yang sudah terdeferensiasi menjadi jaringan, memasuki kembali daur sel melalui proses dideferensiasi. Proses tersebut memungkinkan sel kembali memiliki kemampuan untuk membelah (Salisbury dan Ross, 1995). Zat pengatur tumbuh sitokinin dan auksin yang diberikan berperan dalam pembelahan dan pembesaran sel.

Kalus yang terbentuk pada penelitian ini menghasilkan berat basah yang variatif. Hal ini kemungkinan disebabkan letak jaringan yang digunakan sebagai eksplan pada satu ibu tangkai daun Purwoceng mempunyai sifat meristem yang tidak sama. Menurut Loveless (1991) tiap jaringan tanaman mempunyai sifat meristematik yang berbeda-beda. Selain itu aktivitas zat pengatur tumbuh sintetik, terutama auksin dipengaruhi oleh berbagai macam faktor antara lain; kepekaan jaringan terhadap zat pengatur tumbuh yang diberikan, species tanaman, fase pertumbuhan, sifat

translokasinya di dalam jaringan, dapat juga terjadi kerusakan di dalam jaringan. Oleh karena itu jaringan yang berbeda akan memberikan respon yang berbeda terhadap zat pengatur tumbuh yang diberikan (Wattimena, 1988; Salisbury dan Ross, 1995).

Kombinasi zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP yang diberikan, menunjukkan bahwa penambahan 2,4-D sebesar 1 dan 2 ppm dengan BAP 0 ppm menghasilkan berat basah kalus tertinggi. Penambahan auksin dan sitokinin eksogen ini mengubah konsentrasi zat pengatur tumbuh endogen sel, zat pengatur tumbuh endogen ini kemudian menjadi "triggering factor" untuk proses-proses pertumbuhan dan perkembangan (Gunawan, 1997).

Sitokinin mendorong pembelahan sel dalam kultur jaringan tanaman dengan cara meningkatkan peralihan dari fase G_2 ke mitosis, fase G_2 adalah fase dimana DNA telah melakukan transkripsi dan siap untuk mengadakan pembelahan, hal tersebut terjadi karena sitokinin menaikkan laju sintesis protein. Beberapa protein itu berupa protein pembangun atau enzim yang dibutuhkan untuk mitosis (Salisbury dan Ross, 1995). Sedangkan auksin berperan dalam pembesaran sel (George dan Sherrington, 1984).

Pada penelitian ini, dari berat basah kalus yang dihasilkan terlihat bahwa Penambahan 2,4-D lebih dapat meningkatkan berat basah kalus dibandingkan dengan medium yang diberi penambahan BAP dan kombinasi keduanya. 2,4-D dapat menaikkan berat basah kalus karena kemampuannya untuk menaikkan tekanan osmotik, meningkatkan permeabilitas sel terhadap air dan melunakkan dinding sel

yang diikuti dengan menurunnya tekanan dinding sel sehingga air beserta ion organik maupun anorganik dapat masuk ke dalam sel yang disertai dengan keraikan volume sel. Mekanismenya dapat dijelaskan sebagai berikut, mula-mula hormon auksin akan menempati sisi pengikat hormon pada permukaan biomembran. Sinyal hormon ini akan menimbulkan respon pembelahan, pembentangan, dan diferensiasi sel. Pengikatan hormon pada membran mengakibatkan pH disekitar membran menjadi asam. Hal ini karena hormon akan mengaktifkan protein transmembran ATP-ase untuk memompa ion H₊, sehingga mengakibatkan pH disekitar membran rendah. Kondisi asam ini akan menstimulasi enzim-enzim pada membran. Aktivitas enzim akan meningkatkan enzim β 1-3 glukonase untuk menghidrolisis polisakarida yang menyusuri dinding sel, sehingga dinding sel menjadi lunak dan sel dapat membentangi.

Pada saat sel-sel membentangi, bahan-bahan osmotik seperti gula diangkut ke vakuola, sehingga air beserta ion organik dan anorganik masuk ke dalam sel dan dinding sel akan membentangi. Pembentangan dinding sel terjadi sampai pada suatu tekanan tertentu yang dapat menghalangi absorpsi air beserta ion organik dan anorganik selanjutnya. Sedangkan dinding sel yang rusak oleh pembentangan sel diperbaiki dengan pembentukan dinding sel baru. karena zat pengatur tumbuh yang diberikan juga mesintesis RNA dalam rangka pembentukan dinding sel baru (Wattimena. 1988). Sintesa protein yang dipengaruhi oleh 2,4-D juga dapat digunakan sebagai sumber tenaga dalam pertumbuhan dan kelangsungan hidup kalus.

Media yang diberi penambahan BAP dengan konsentrasi 0,5 dan 1 ppm juga mampu membentuk kalus, namun berat basah kalus yang dihasilkan lebih rendah dibandingkan dengan media yang diberi 2,4-D 1 dan 2 ppm. Hal ini terjadi kemungkinan karena eksplan masih kurang peka terhadap konsentrasi BAP yang diberikan atau ditambahkan. Pada dasarnya sitokinin juga dapat meningkatkan daya membenteng tetapi hanya pada jenis jaringan tertentu yang peka (Salisbury dan Ross, 1995).

Menurut Dodds dan Robert (1992) konsentrasi zat pengatur tumbuh memberikan respon yang berbeda-beda tergantung jenis dan tipe eksplan yang dikulturkan. Oleh karena itu pemberian zat pengatur tumbuh yang berbeda pada suatu jaringan juga dapat memberikan pengaruh yang berbeda pula. Penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP ini walaupun mampu membentuk kalus dan dapat meningkatkan berat basah kalus, namun tidak berpengaruh terhadap berat kering kalus. Secara statistik, penambahan 2,4-D sebesar 1; 2; 3 ppm dan BAP sebesar 0; 0,5; 1 ppm ataupun kombinasinya menghasilkan berat kering yang sama (lampiran 4), karena berat kering merupakan pengukuran terhadap hasil-hasil metabolisme seperti asam-asam amino, protein, lipid, asam nukleat dan molekul kompleks lain, maka penambahan 2,4-D dan BAP dengan konsentrasi tersebut di atas kemungkinan berpengaruh sama terhadap metabolisme sel jaringan eksplan pada penelitian ini.

Berat kering menunjukkan kandungan bahan organik dalam sel yang disebabkan oleh meningkatnya metabolisme dalam sel. Menurut Agustina (1990)

menyatakan bahwa berat kering sebagian besar ditentukan oleh berat dinding sel yang terbentuk.

Auksin dan sitokinin berperan pada proses-proses metabolisme yang merubah molekul sederhana seperti CO_2 , H_2O , gula, asam-asam amino, ion-ion anorganik menjadi protein asam nukleat, polisakarida dan molekul kompleks lainnya penyusun dinding sel dalam pembentukan kalus. Zat pengatur tumbuh ini mempengaruhi perubahan aktivitas kerja enzim, sehingga akan menghasilkan proses metabolisme yang berbeda yang akhirnya akan menghasilkan jenis sel yang berbeda secara fisiologis dan morfologi (Wattimena, 1988).

Dari pengertian di atas dapat dikatakan bahwa penambahan 2,4-D dan BAP pada penelitian ini lebih berpengaruh pada pemasukkan air beserta ion organik dan anorganik ke dalam sel dan kemungkinan belum memenuhi perbandingan konsentrasi auksin dan sitokinin yang sesuai untuk meningkatkan pertumbuhan kalus eksplan ibu tangkai daun Purwoceng (*Pimpinella alpina*). Seperti yang disebutkan Skoog dan Miller dalam George dan Sherrington (1984) bahwa penggunaan auksin dan sitokinin dalam perbandingan yang tepat dan sesuai akan mendukung pertumbuhan kalus secara *in vitro*. Medium kontrol (2,4-D 0 ppm dan BAP 0 ppm) tidak menunjukkan adanya pembentukan dan pertumbuhan kalus. Hal ini kemungkinan tanpa adanya penambahan konsentrasi zat pengatur tumbuh eksogen, hormon endogen yang ada di dalam sel tidak mampu untuk menginisiasi pembentukan kalus. Menurut Gunawan (1997) pembentukan kalus membutuhkan jumlah zat pengatur tumbuh yang cukup.

Keadaan lingkungan kultur jaringan harus disesuaikan dengan kebutuhan eksplan karena pengaruhnya pada tiap-tiap species berbeda-beda. Temperatur pada lingkungan kultur selama penelitian berkisar 25°C dengan kelembaban sebesar 65%, sehingga suhu dan kelembaban selama penelitian masih dalam kisaran optimal untuk pertumbuhan eksplan tangkai daun purwoceng (*Pimpinella alpina*). Menurut Wetherell (1982), Gunawan (1991) dan Narayanaswamy (1994) suhu konstan yang paling sering digunakan untuk penelitian kultur jaringan sebesar 25°C sampai 27°C sedangkan menurut George dan Sherrington (1984) kelembaban relatif mencapai 70% yang baik untuk inkubasi eksplan.

