

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Purwoceng (*Pimpinella alpina*, Kds)

1. *Habitus*

Purwoceng merupakan tanaman terna yang berbau wangi, tumbuh di pegunungan yang berhawa sejuk, pada ketinggian 2000 sampai 3000 meter di atas permukaan laut. Tanaman ini dapat ditemukan di daerah gunung Galunggung, gunung Pangrango dan desa Sikunang di lereng pegunungan Dieng, namun saat ini purwoceng sudah sulit dicari. (Heyne, 1987; Anonim, 1990; Anonim, 1993).

2. *Morfologi*

Purwoceng masuk dalam famili Umbelliferae yang mempunyai ciri-ciri sebagai berikut: merupakan tumbuhan terna annual, herbaceous, daun majemuk, pangkal tangkainya melebar menjadi upih, duduk daunnya berhadapan, tanpa daun penumpu, bunga payung majemuk, kebanyakan banci dan aktinomorfi. Kelopak kecil berlekuk 5, menempel pada bakal buah. Mahkota terdiri atas daun mahkota yang bebas dengan ujungnya membengkok ke dalam dan cepat gugur. Benangsari 5 berseling dengan daun mahkotanya, kepala sari beruang 2, membuka dengan celah membujur, bakal buah tenggelam, mempunyai 2 pangkal tangkai putik yang menebal, beruang 2, tiap ruang dengan 1 bakal biji, buahnya berbagi berusuk, bila masak terpisah

menjadi dua bagian berisi biji dan tetap bergantung pada satu karpofor (Tjitrosoepomo, 1988).

Purwoceng mempunyai anak tangkai daun yang panjangnya ± 2 cm, dan akarnya tumbuh ± 15 cm didalam tanah. Tanaman purwoceng, umbinya mempunyai bentuk seperti wortel, warnanya putih kecoklatan dan berkhasiat sebagai obat (Heyne, 1987; Anonim, 1993).

3. Nama Daerah dan Klasifikasi

Tanaman purwoceng mempunyai bermacam nama daerah : di Jawa Barat (Sunda) disebut antanan gunung, di Jawa Tengah dan Jawa Timur disebut gebangan depok, purwa aceng, purwoceng, rumput dempa atau suri pandak abang (Heyne, 1987; Anonim, 1990). Klasifikasi tanaman purwoceng

Divisio : Spermatophyta
Sub divisio : Angiospermae
Classis : Dicotyledonae
Ordo : Umbelliflorae
Familia : Umbelliferae
Genus : *Pimpinella*
Species : *Pimpinella alpina*, Kds (Tjitrosoepomo, 1988).

B. Kultur Kalus

Kalus merupakan proliferasi massa sel yang belum terdiferensiasi dan terdiri dari sel yang tidak teratur. Kultur kalus merupakan kultur sekumpulan sel yang tidak terorganisir hanya sel-sel parenkima yang berasal dari berbagai bahan awal (Gunawan, 1987; Wetherell, 1982; Hendaryono dan Wijayani, 1994).

1. Eksplan

Eksplan merupakan bagian tanaman yang dijadikan bahan inokulum awal yang ditanam dalam media, yang nantinya akan menunjukkan pertumbuhan dan perkembangan tertentu. Pada banyak tanaman “herbaceous”, kalus dapat diperoleh dari eksplan yang bervariasi seperti daun, potongan batang, tangkai, akar dan kecambah (Gunawan, 1991). Meskipun pada prinsipnya semua jenis sel dapat ditumbuhkan tetapi sebaiknya dipilih bagian tanaman yang masih muda dan mudah tumbuh yaitu bagian meristem (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Eksplan diambil dari lingkungan sehingga seringkali terkontaminasi dengan debu dan mikroorganisme. Sterilisasi diperlukan untuk menghindari eksplan terkontaminasi. Eksplan yang diambil dari batang atau tangkai, sterilisasi biasanya dilakukan dengan menggunakan natrium klorida dengan konsentrasi 0,5-2 %. Natrium klorida mempunyai kelebihan yaitu merupakan senyawa yang tidak berbahaya, daya toksisitas rendah serta perlakuan dengan senyawa ini tidak menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan (Bajaj, 1977; George dan Sherrington, 1984; Torres, 1989; Narayanaswamy, 1994).

2. *Medium*

Dari pengujian yang dilakukan ditemukan bahwa kemampuan jaringan membentuk kalus dan laju pertumbuhan kalus tergantung pada medium, zat pengatur tumbuh yang digunakan dan faktor lingkungan lainnya. (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Setiap eksplan dari suatu komoditas tanaman mempunyai kecocokan terhadap suatu medium untuk mampu tumbuh menjadi kalus. Dari hasil penelitian terbukti bahwa medium MS paling banyak digunakan (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Media MS mengandung semua nutrisi mineral pada konsentrasi yang tinggi, selain itu juga mengandung nitrat, amonium dan potasium dalam jumlah banyak (Street, 1977).

Media yang digunakan untuk kultur kalus atau organ tanaman adalah media padat (George dan Sherrington, 1984). Media dari kultur jaringan tanaman terdiri dari beberapa atau semua komponen seperti di bawah ini :

a. Makronutrien

Elemen penting makronutrien yang dibutuhkan tanaman yaitu N, P, K, Ca, Mg dan S (George dan Sherrington, 1984).

b. Mikronutrien

Mikronutrien esensial dari logam adalah Fe, Mn, Zn, B, Cu, Co dan Mo (George dan Sherrington, 1984).

c. "Chelating agent"

Adalah senyawa dimana molekulnya mampu mengikat ion logam dengan beberapa ikatan kimia, membentuk cincin kompleks (chelating). Pengikatan besi dengan EDTA ("Ethylene Diamine Tetra Acetic acid") dapat mencegah pengendapan besi dalam media (Street, 1977; Salisbury dan Ross, 1995).

d. Vitamin

Subtansi vitamin juga dibutuhkan oleh sel tanaman untuk membantu metabolisme katalitis. Murashige dan Skoog mencampur kombinasi vitamin dari Myoinositol, thiamine, nicotinic acid dan pyridoxine dan telah digunakan untuk berbagai macam kultur jaringan. Thiamine-HCL merupakan vitamin yang konsisten dibutuhkan untuk pertumbuhan secara in vitro (Staba, 1982).

e. Asam amino

Asam amino menyediakan sumber N bagi sel tumbuhan (Thom *et al*, 1981) dalam George dan Sherrington (1984). Kebutuhan akan asam amino dalam kultur jaringan tanaman dapat dipenuhi dengan berbagai macam protein hidrolisat, misalnya casein hidrolisat (Staba, 1982). Selain itu, karena pertumbuhan kalus membutuhkan berbagai macam asam amino maka dapat pula ditambahkan glycine dan arginin (Torres, 1989).

f. Gula

Sukrosa merupakan sumber energi yang paling sesuai untuk kultur kalus. Untuk kultur kalus, 2%– 4% sukrosa w/v biasanya optimal (George dan Sherrington, 1984).

g. Buffer

Buffer digunakan untuk menyangga pH. Apabila pH terlalu rendah dilakukan penambahan NaOH atau terlalu tinggi ditambah HCl (0,1- 1,0 M). pH yang terlalu tinggi dapat menghentikan pertumbuhan secara *in vitro* dan jika pH terlalu rendah dapat menyebabkan IAA menjadi kurang stabil (Pierik 1987).

h. Agar

Agar digunakan untuk membuat media padat atau semi padat pada kultur jaringan tanaman. Konsentrasi agar yang diberikan berkisar antara 0,6% -- 1% w/v. Konsentrasi agar yang terlalu tinggi dapat mengurangi difusi persenyawaan dari dan kearah eksplan sehingga pengambilan hara dan zat tambah berkurang, sedangkan zat penghambat dari eksplan tetap terkumpul di sekitar eksplan (Debergh, 1982 dalam Gunawan 1997). Konsentrasi agar yang terlalu tinggi membuat daya ikat agar terhadap air makin kuat karena agar mempunyai sifat mengikat air. Sehingga dapat menyulitkan eksplan menyerap unsur hara yang terlarut dalam medium (Pierik, 1987; Katuuk, 1989).

i. Zat pengatur tumbuh

Zat pengatur tumbuh merupakan suatu senyawa organik bukan nutrisi yang dalam konsentrasi rendah mendorong, menghambat atau secara kualitatif mengubah pertumbuhan tanaman (Gunawan, 1997). Zat pengatur tumbuh terdapat dalam tubuh tumbuhan, disebut hormon endogen, ada dalam jumlah sedikit sehingga diperlukan penambahan hormon dari luar (Gunawan, 1991). Kebutuhan tanaman akan hormon tumbuh dibagi menjadi 4 yaitu, jaringan hanya memerlukan auksin saja; jaringan hanya membutuhkan sitokinin; jaringan membutuhkan auksin dan sitokinin; dan jaringan hanya akan merespons apabila media mengandung ekstrak kompleks alami. Beberapa jaringan pada kultur jaringan tanaman gagal untuk merespons media yang hanya mengandung auksin dan membutuhkan penambahan sitokinin (Street, 1977).

1. Auksin

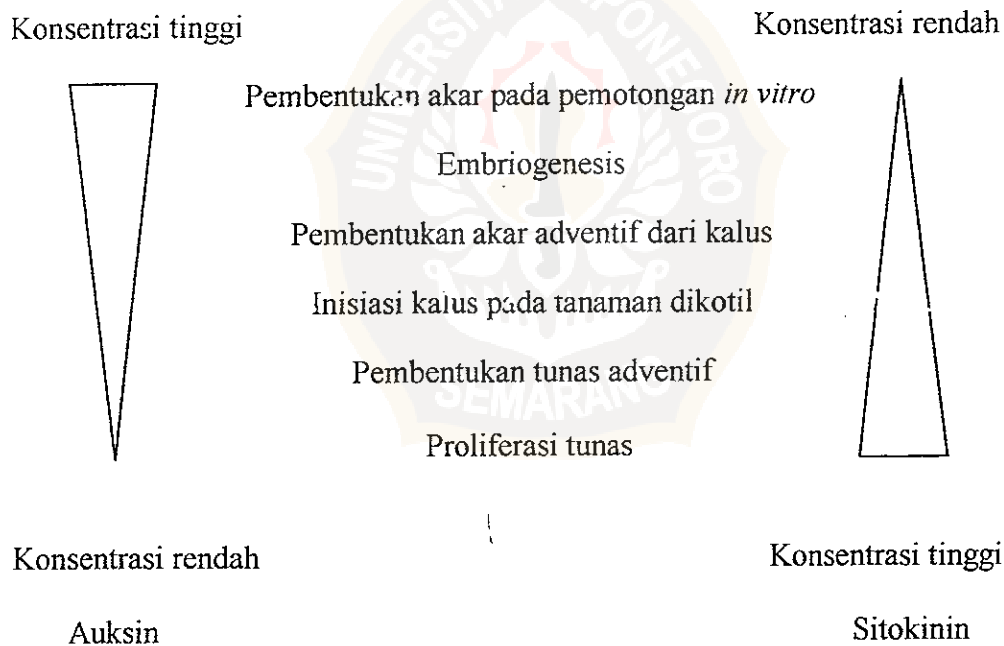
Auksin yang banyak dipergunakan untuk induksi kalus adalah 2,4-D (George dan Sherrington, 1984; Staba, 1982; Street, 1977, Pierik, 1987; Gunawan, 1991). 2,4-D mempunyai beberapa kelebihan; dibandingkan dengan IAA, antara lain :

1. 2,4-D menunjukkan aktivitas auksin yang lebih tinggi
2. Kelarutan 2,4-D dalam lemak dan air sama dengan IAA
3. 2,4-D lebih resisten terhadap IAA oksidase
4. Murah

2. Sitokinin

Pengaruh sitokinin di dalam kultur jaringan tanaman antara lain: berhubungan dengan proses pembelahan sel. Tanaman dikotil pada umumnya memerlukan sitokinin untuk proliferasi kalus. Didalam suatu percobaan secara umum kultur jaringan dipergunakan BAP yang jauh lebih murah dan tahan degradasi (Gunawan, 1991).

Beberapa aspek diferensiasi dan organogenesis sel dikontrol oleh interaksi antara auksin dan sitokinin. Keseimbangan dari dua hormon tumbuh sebagai syarat berbagai macam tujuan pada umumnya dapat digambarkan seperti dibawah ini,



Gambar 1. Hubungan antara auksin dan sitokinin yang sering dibutuhkan dalam morfogenesis (George dan Sherrington, 1984).

3. Lingkungan Tumbuh

a. Suhu

Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa setiap jenis tanaman memiliki suhu optimum untuk pertumbuhan dan perbanyakan. Hampir semua kultur jaringan dipelihara dibawah temperatur kamar, yang berkisar $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ (Gunawan, 1991; Narayanaswamy, 1994).

b. Kelembaban udara

Kelembaban relatif yang dibutuhkan ruang kultur jaringan $\pm 70\%$ (George dan Sherrington, 1984), karena apabila kelembaban ruangan terlalu rendah, penguapan air dalam botol kultur terlalu besar dan apabila kelembaban terlalu tinggi akan menyebabkan terjadinya pertumbuhan mikroba diluar wadah kultur serta alat-alat lain (Wetherell, 1982).

c. Cahaya

Intensitas cahaya yang diperlukan untuk pertumbuhan kalus bervariasi antar varietas, intensitas pada ruang kultur 1000 sampai 10.000 lux (Gunawan, 1991).

C. Pertumbuhan

Pertumbuhan merupakan proses dalam kehidupan tanaman yang mengakibatkan perubahan ukuran tanaman semakin besar dan juga yang menentukan hasil tanaman. Pertambahan ukuran tubuh tanaman secara keseluruhan merupakan hasil dari pertambahan ukuran bagian-bagian (organ-

organ) tanaman akibat penambahan jaringan sel yang dihasilkan oleh penambahan ukuran sel. Jumlah sel yang semakin banyak atau volume sel yang semakin besar membutuhkan semakin banyak bahan-bahan sel yang di sintesis menggunakan substrat yang sesuai. Pertumbuhan berfungsi sebagai proses yang mengolah masukan substrat tersebut menghasilkan produk pertumbuhan. Pada tingkat sel, proses pertumbuhan menggunakan substrat senyawa-senyawa organik seperti asam amino dan karbohidrat untuk menghasilkan bahan-bahan sel (Sitompul dan Guritno, 1995).

Analisis dari pertumbuhan kalus, biasanya berdasarkan pada berat basah kalus, kadang-kadang berat kering atau jumlah sel. Pengukuran berat basah kalus merupakan cara yang sederhana, mudah, cepat dan tidak merusak kalus (Street, 1977; Torres, 1989). Berat digunakan sebagai parameter juga karena relatif mudah diukur, merupakan integrasi dari hampir semua peristiwa yang dialami tanaman seluruhnya dan merupakan pertumbuhan yang representative (Sitompul dan Guritno, 1995).

Pengukuran berat kering dari kalus digunakan untuk mengestimasi kemungkinan aktivitas biosintetik dari kultur jaringan. Berat kering didapat dari pengeringan bahan, yang bertujuan untuk menghilangkan semua kandungan air bahan, dilaksanakan pada suhu relatif tinggi selama jangka waktu tertentu. Biasanya pengeringan bahan dilakukan selama 2 X 24 jam pada suhu 75°C-80° C (Sitompul dan Guritno, 1995).