

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Taksonomi dan Morfologi Tanaman Semangka

Taksonomi tanaman semangka menurut Heyne (1987) adalah sebagai berikut:

Divisio	: Spermatophyta
Sub Divisio	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Sub kelas	: Sympetalae
Bangsa	: Cucurbitales
Suku	: Cucurbitaceae
Marga	: Citrullus
Spesies	: <i>Citrullus vulgaris</i> Schard.

Tanaman semangka merupakan tanaman semusim, artinya hanya dapat menghasilkan buah sekali saja kemudian tanaman akan kering dan mati. Kebanyakan berupa terna annual, menjalar atau memanjat dengan menggunakan sulur atau alat pembelit yang merupakan metamorfosis dari cabang produktif, dengan sulur mencapai 3 – 5 m (Samadi, 1996). Mempunyai akar serabut yang menyebar tidak jauh dari permukaan tanah. Batang lunak, bulat panjang, bercabang, berwarna hijau dan menjalar. Daun berbentuk cuping, sisi bawah berambut rapat pada tulangnya, dengan tepi

bergelombang, dan terletak beraturan di sepanjang sulur tanaman. Bunga tumbuh pada ketiak tangkai daun, mempunyai bunga yang tidak sempurna, artinya antara tepung sari dan kepala putik tidak terletak pada bunga yang sama. Pada bunga jantan kelopak berbentuk lonceng lebar, benang sari 3 dengan tangkai sari bebas. Bunga betina mempunyai bakal buah bulat memanjang, kepala putik 3, bentuk ginjal.. Buah bentuk bola hingga bulat memanjang licin, kulit buah bergaris memanjang atau polos, tergantung varietasnya (Steenis, 1975).

Karena tanaman semangka merupakan tanaman tropis, maka untuk pertumbuhannya memerlukan cahaya matahari penuh, dengan suhu antara 25- 30⁰ C, dan curah hujan 40 – 50 mm/bulan. Tanaman semangka dapat tumbuh dengan baik sampai ketinggian 300 m dari permukaan laut dan menyukai tanah gembur, subur, mengandung banyak bahan organik serta baik drainasenya, seperti tanah berpasir atau lempung berpasir. Derajat keasaman (pH) tanah antara 6 – 6,7 tetapi masih toleran pada tanah dengan pH 7 (Dwiragupti, 1992; Wihardjo,1993).

B. Teknik Kultur *In Vitro* dan Faktor-Faktor yang Mempengaruhinya

Teknik kultur *in vitro* merupakan teknik untuk mengisolasi bagian-bagian tanaman seperti protoplasma, sel, jaringan atau organ. Bagian tersebut ditumbuhkan didalam media buatan aseptik yang kaya akan nutrisi serta zat pengatur tumbuh dalam wadah tertutup yang tembus cahaya (*vitrous*), dengan tujuan agar bagian-bagian tersebut memperbanyak diri dan beregenerasi

kembali menjadi tanaman lengkap (Street, 1972; Gunawan, 1982). Street (1972) berpendapat bahwa pelaksanaan teknik kultur *in vitro* berdasarkan teori sel seperti yang dikemukakan oleh Schleiden dan Schwann, yaitu bahwa sel tanaman mempunyai kemampuan totipotensi, yaitu kemampuan sel untuk melaksanakan segala aktivitas hidup seperti metabolisme, reproduksi dan tumbuh. Menurut Wetherel (1982) sifat totipotensi ini dikarenakan adanya informasi genetik dalam sel hidup, sehingga sel mampu melakukan regenerasi bagian-bagian yang diperlukan untuk tumbuh menjadi tanaman yang sempurna jika dipelihara pada lingkungan yang sesuai.

Prinsip dari teknik kultur *in vitro* yaitu jika sel, jaringan atau organ tanaman dipelihara dalam media dan lingkungan yang sesuai serta kondisi yang aseptis, maka sel-sel penyusun eksplan tersebut akan membelah menjadi suatu massa sel yang belum terdiferensiasi yang disebut kalus. Kalus kemudian akan mengalami proliferasi membentuk jaringan, organ dan akhirnya menjadi individu baru atau *plantlet* (George dan Sherrington, 1984).

Kultur *in vitro* terus berkembang dan telah banyak digunakan untuk berbagai kepentingan, antara lain untuk seleksi sifat genetik, mendapatkan koloni bebas virus dan varietas pilihan, untuk memproduksi senyawa kimia (metabolit sekunder) yang berkhasiat untuk obat dan bernilai ekonomi tinggi (Katuuk, 1989), dan digunakan pula untuk mendapatkan hibrid atau kultivar baru yang toleran atau resisten terhadap penyakit tanaman (Suryowinoto, 1996).

Keberhasilan kultur *in vitro* ditentukan oleh banyak faktor yang saling berinteraksi. Faktor-faktor tersebut antara lain sumber eksplan, lingkungan kultur, dan komponen media kultur. Komponen media kultur terdiri dari garam-garam an organik dan beberapa substansi organik, seperti zat pengatur tumbuh, sumber karbon, asam amino dan vitamin (George dan Sherrington, 1984; Katuuk, 1989; Gunawan, 1995).

B.1. Eksplan

Eksplan adalah bagian dari tanaman (dapat berupa sel, jaringan, atau organ) yang digunakan sebagai bahan tanam dalam kultur *in vitro*. Faktor-faktor di dalam eksplan yang mempengaruhi kultur *in vitro* antara lain adalah sumber eksplan, umur eksplan, bagian tumbuhan, serta ukuran eksplan (George dan Sherrington, 1984; Katuuk, 1989; Gunawan, 1995). Sebagai sumber eksplan diambil dari tanaman yang sedang dalam pertumbuhan aktif, dalam keadaan sehat dan tumbuh dengan baik atau normal (Katuuk, 1989).

Eksplan dari jaringan muda lebih aktif mengadakan pembelahan sel daripada jaringan yang lebih tua (Gunawan, 1995). Organ dan jaringan yang masih muda yaitu pada bagian meristem, diantaranya daun muda, ujung akar, ujung batang, kotiledon dan sebagainya.

Umur eksplan juga berpengaruh terhadap keberhasilan kultur *in vitro*. Dari penelitian Harjanti (1995), eksplan internodus pertama tanaman melati lebih cepat menghasilkan kalus daripada internodus yang lain, karena sel-sel pada internodus pertama cenderung masih muda dan lebih meristematis

daripada sel-sel internodus yang lain. Pada tanaman tomat, umur kecambah tanaman tomat yang digunakan sebagai eksplan ternyata berpengaruh terhadap kecepatan terbentuknya kalus. Kecambah umur 2 minggu relatif lebih cepat membentuk kalus daripada kecambah umur 3 minggu (Apriana, 1996).

Ukuran eksplan juga menentukan keberhasilan kultur *in vitro*. Eksplan daun yang mempunyai ukuran besar mempunyai daya tahan yang lebih tinggi daripada eksplan yang berukuran kecil. Biasanya eksplan yang terlalu kecil mempunyai daya tahan kurang. Menurut Katuuk (1989), makin kecil eksplan makin besar daerah luka, akibatnya makin tinggi derajat kerusakan eksplan. Ukuran eksplan yang paling baik adalah antara 0,5 - 1,0 cm, namun ukuran ini dapat bervariasi, tergantung dari bahan tanaman yang digunakan serta jenis tanaman.

B.2. Lingkungan kultur

Faktor lingkungan juga merupakan faktor penting yang menentukan keberhasilan budidaya dalam teknik kultur *in vitro*. Ruang kultur sebaiknya memiliki fasilitas penyiaran, suhu dan sirkulasi udara yang mendukung pertumbuhan dan perkembangan tanaman dalam kultur *in vitro*.

Faktor lingkungan yang berpengaruh pada kultur jaringan adalah suhu, keasaman (pH), kelembaban (rH), serta penyiaran (Wetherel, 1982; Sriyanti dan Wijayani, 1994; Gunawan, 1995).

Temperatur yang digunakan untuk tanaman yang di tanam secara *in vitro* adalah lebih rendah bila dibandingkan dengan tanaman yang ditanam secara *in*

vivo. Sebagian besar dari penelitian yang telah dipublikasikan menyebutkan bahwa pemakaian suhu konstan yang baik antara 25 – 27⁰C, sedangkan suhu optimum untuk pertumbuhan kultur kalus berbeda untuk setiap spesies. Suhu optimum tersebut dapat dicapai bila digunakan lampu fluoresensi secara efisien dan ruangan menggunakan *air conditioner* (AC) (Wetherel, 1982).

Untuk budidaya jaringan diperlukan pH sedikit asam. Biasanya pH optimum berkisar antara 5 – 6. Kestabilan pH akan mempengaruhi proses pertumbuhan, yaitu dalam hubungannya dengan ketersediaan unsur hara terlarut yang akan diserap tanaman. pH dalam media berperan dalam menjaga kestabilan membran sel, mengatur garam-garam mineral agar tetap dalam bentuk terlarut dan untuk membantu penyerapan zat hara (George dan Sherrington, 1984).

Faktor kelembaban udara diluar botol kultur perlu *in vitro* juga diperhatikan agar dapat mendukung kelangsungan hidup eksplan tanaman dalam kultur *in vitro*. Katuuk (1989) menyarankan agar kelembaban udara di ruang kultur berkisar 70 %.

Kebutuhan cahaya bagi kultur jaringan tanaman meliputi intensitas penyinaran, kualitas sinar dan lamanya penyinaran (Wetherel, 1982). Penyinaran yang diberikan secara kontinyu atau lama penyinaran selama 12 jam sehari maupun 16 jam sehari akan berpengaruh pada beberapa spesies tanaman (Wetherel, 1982). Sebagai sumber cahaya biasanya dipakai lampu fluoresensi yang berwarna putih. Lampu jenis ini pancaran sinarnya lebih merata, mempunyai kemampuan merubah energi listrik menjadi energi cahaya

3x lebih besar daripada lampu biasa, dan panas yang ditimbulkan relatif lebih rendah (Wetherel, 1982).

B.3. Komponen media kultur

Pemilihan media tergantung pada jenis tanaman, jaringan, ataupun organ yang dikulturkan, dan tujuan percobaan. Media berperan sebagai sumber nutrisi bagi eksplan yang ditanam. Nutrien tersebut harus diberikan dalam jumlah dan perbandingan yang sesuai untuk setiap spesies tanaman yang ditanam. Media umumnya terdiri atas garam-garam an organik makro dan mikro, sumber karbon, vitamin, asam amino, air, bahan pematat, zat pengatur tumbuh dan ekstrak bahan alami (Street, 1972; Katuuk, 1989). Walaupun di dalam eksplan sendiri terdapat hormon endogen, tetapi seringkali kedalam media masih perlu ditambahkan zat pengatur tumbuh eksogen untuk memacu pertumbuhan dan perkembangan eksplan yang ditanam secara *in vitro* (George dan Sherrington, 1984).

B.3.1. Unsur-unsur hara makro dan mikro

Unsur-unsur hara makro yang diperlukan dalam media kultur adalah N, S, P, K, Ca dan Mg yang dibutuhkan dalam jumlah besar untuk pertumbuhan dan perkembangan jaringan tanaman. Unsur-unsur makro tersebut 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 .

Unsur-unsur mikro dibutuhkan dalam jumlah sedikit, antara lain terdiri atas Fe, Mn, Zn, Cu, B, Cl, I, Co dan Mo. Unsur mikro diberikan dalam bentuk $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, MnSO_4 , $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, dan H_3BO_3 , (George dan Sherrington, 1984; Katuuk, 1989; Salisbury dan Ross, 1992).

B.3.2. Sumber karbon (C)

Sumber karbon yang biasa digunakan dalam kultur *in vitro* adalah sukrosa. Sukrosa merupakan bahan kimia organik yang berfungsi sebagai energi yang digunakan untuk induksi dan pertumbuhan kalus (Katuuk, 1985). Selain itu, sukrosa berperan dalam morfogenesis, karena dapat meningkatkan respirasi, meningkatkan kerja enzim oksidase dan keseimbangan tekanan osmotik dalam media (George dan Sherrington, 1984; Katuuk, 1985). Sukrosa biasanya ditambahkan kedalam media dengan konsentrasi 20 – 30 g/l bahkan lebih, tergantung pada jenis eksplan yang ditanam serta tujuan eksperimen (Katuuk, 1985).

B.3.3. Vitamin.

Penambahan vitamin kedalam media bertujuan untuk memacu pertumbuhan jaringan tanaman. Vitamin diperlukan dalam jumlah kecil, mempunyai fungsi katalitik dalam sistem enzim (Staba, 1980). Vitamin yang sering digunakan untuk budidaya jaringan adalah tiamin, asam nikotinat dan piridoksin. Tiamin, piridoksin dan niasin ditambahkan pada media kultur jaringan untuk meningkatkan pertumbuhan sel. (Katuuk, 1989).

B.3.4. Myo-inositol

Myo-inositol digunakan untuk membantu pertumbuhan jaringan dan merupakan perantara pada penyusunan dinding sel (Katuuk, 1989).

B.3.5. Asam amino

Asam amino merupakan sumber N organik. Asam amino yang diberikan dalam media kultur *in vitro* antara lain glutamin, adenin dan asparagin. Asam amino digunakan untuk merangsang pertumbuhan sel lebih lanjut, terutama dalam kultur sel dan kultur protoplas (Tones, 1957 dalam Poedjirahayu, 1995).

B.3.6. Air

Air memegang peranan penting dalam proses pengkulturan eksplan. Air suling paling baik digunakan untuk media kultur, karena dalam air suling tidak terlarut kontaminan yang berupa mikroorganisme atau substansi yang dapat merusak proses perkembangan kultur *in vitro* (Katuuk, 1989).

B.3.7. Bahan pematik

Agar merupakan bahan pematik yang sering digunakan. Agar merupakan polisakarida yang mengandung sejumlah unsur Ca, Mg, Fe, serta beberapa unsur lainnya. Agar mempunyai sifat dapat mengikat air. Konsentrasi agar yang semakin tinggi dalam media, semakin kuat daya mengikat airnya, sehingga menyulitkan eksplan dalam menyerap unsur hara

yang terlarut dalam media (Pierik, 1987 dalam Astuti, 1997; Katuuk, 1989). Konsentrasi agar yang sering ditambahkan adalah 0,6 – 0,8% (Katuuk, 1989).

B.3.8. Zat Pengatur Tumbuh

Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) adalah senyawa organik yang bukan hara (nutrien), yang dalam jumlah sedikit dapat mendukung, menghambat dan mengubah proses fisiologi tumbuhan (Abidin, 1985). ZPT diperlukan dalam kultur *in vitro* untuk memacu terbentuknya kalus. Kalus berdiferensiasi membentuk sel-sel khusus yang akan menyusun jaringan suatu organ. Selanjutnya jaringan-jaringan tersebut akan menyusun suatu organ tanaman. ZPT merupakan faktor yang sangat penting di dalam keberhasilan budidaya jaringan tanaman. Menurut Staba (1980), ZPT diberikan dalam media kultur *in vitro* untuk menghasilkan kalus. Staba (1980) membagi ZPT ke dalam 5 golongan, yaitu auksin, sitokinin, giberelin, asam absisat dan etilen. Dari semua jenis ZPT, auksin dan sitokinin biasanya paling sering digunakan dalam kultur jaringan tanaman. Di dalam mempengaruhi pertumbuhan, interaksi masing-masing ZPT sangat penting. Interaksi antara sitokinin dan auksin akan menentukan terjadinya diferensiasi sel untuk membentuk bakal tunas ataupun bakal akar pada kultur jaringan (Abidin, 1985). Jumlah optimum dari ZPT yang digunakan tergantung dari tipe pertumbuhan yang diinginkan. Dalam jumlah optimum ZPT akan merangsang pertumbuhan, tetapi dalam jumlah berlebih atau kurang akan menghambat pertumbuhan

B. Auksin dan Sitokinin sebagai Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan

Kalus

C.1. Auksin

Peranan auksin pada tanaman antara lain merangsang pembesaran dan pembentangan sel yang terdapat pada pucuk tanaman. Auksin alamiah yang sering terdapat pada tumbuhan adalah IAA (3- Indol Acetic Acid). IAA disintesis dari triptofan di bagian tertentu tumbuhan, diantaranya pada primordia daun, daun muda, dan biji yang sedang berkembang (Wattimena, 1988). IAA (Indole Acetic Acid) dari golongan auksin alami serta NAA (Naphthalene Acetic Acid) dan 2,4-D (2,4-dichlorophenoxy acetic acid) dari golongan auksin sintetik sering ditambahkan ke dalam media untuk merangsang induksi kalus dari eksplan (Wetherel, 1982).

Menurut Sriyanti dan Wijayani (1994), IAA lebih sering dipakai dalam organogenesis karena pengaruh merugikan yang ditimbulkan lebih kecil daripada jika menggunakan auksin yang lain. Tetapi media yang mengandung IAA lebih cepat terdeteriorasi (mengalami kerusakan) daripada media yang mengandung NAA. Sementara itu NAA mempunyai sifat lebih stabil daripada IAA karena tidak mudah terurai oleh enzim-enzim yang dikeluarkan oleh sel atau oleh pemanasan saat sterilisasi. Auksin sintetik yang lebih stabil daripada IAA adalah 2,4-D, tetapi pemakaiannya untuk tanaman dikotil sebaiknya dibatasi, karena 2,4-D dikenal sebagai herbisida karena sifat fitotoksitasnya yang tinggi (Gamborg dan Wetter, 1970, dalam Sriani, 1982).

Peranan auksin dalam memacu pertumbuhan jaringan tanaman melalui 2 cara, yaitu :

1. Mengaktifkan pompa ion pada membran plasma menuju dinding sel. Adanya ion H^+ di dalam dinding sel menyebabkan terputusnya ikatan hidrogen yang menghubungkan siloglikan dengan mikrofibril selulosa. Hal ini mengakibatkan terjadinya pergeseran siloglikan di sepanjang dinding sel, sehingga dinding sel menjadi longgar dan akan menurunkan tekanan turgor di dalam sel-sel eksplan. Selanjutnya air akan masuk ke dalam sel dan menyebabkan pembesaran sel tersebut (Wareing dan Phillips, 1981).
2. Berpengaruh pada sintesa protein, yaitu dengan membebaskan DNA dari histon (suatu bahan dari protein yang terdiri dari DNA) untuk sintesis RNA. mRNA akan membantu pembentukan enzim-enzim baru yang akan meningkatkan plastisitas dan pelebaran dinding sel (Delvin, 1975 dalam Abidin, 1982).

C.2. Sitokinin

Sitokinin merupakan zat pengatur tumbuh yang mampu memacu terjadinya pertumbuhan sel, yaitu dengan meningkatkan sintesis RNA dalam inti sel dan memacu terjadinya sitokinesis (George dan Sherrington, 1984; Wattimena, 1988). Selain itu sitokinin juga berperan dalam pertumbuhan dan organogenesis (George dan Sherrington, 1984; Salisbury dan Ross, 1992). Dalam Wattimena (1988) disebutkan bahwa sitokinin memiliki cincin adenin

yang merupakan bagian dari DNA dan RNA. Dijelaskan pula bahwa sitokinin berperan pula dalam mengatur pelepasan RNA ke sitoplasma.

Golongan sitokinin antara lain zeatin, kinetin, bensilaminopurin dan 2-isopentenil adenin (2-iP). Sitokinin yang paling sering digunakan dalam kultur *in vitro* adalah BAP dan kinetin. Ditambahkan oleh George dan Sherrington (1984) bahwa BAP lebih sering digunakan karena paling efektif untuk merangsang pembentukan tunas, lebih stabil dan tahan terhadap oksidasi serta paling murah diantara jenis sitokinin lainnya.

Interaksi dan perimbangan auksin dan sitokinin yang ditambahkan dalam media dan yang diproduksi secara endogen dalam tanaman menentukan perkembangan eksplan yang ditanam (Gunawan, 1988). Ditambahkan oleh Gati dan Mariska (1988) bahwa aktivitas sitokinin di dalam pembelahan sel akan dirangsang oleh adanya auksin.

D. Induksi Kalus Tanaman Semangka

Soeryowinoto (1996) menjelaskan bahwa menginduksi terbentuknya kalus dalam budidaya *in vitro* merupakan salah satu langkah penting. Pembentukan kalus biasanya terjadi pada jaringan dengan sel-sel yang sedang aktif membelah, yang kandungan senyawa endogennya cukup. Selain itu pembentukan kalus juga dipengaruhi oleh ketersediaan unsur-unsur hara yang dibutuhkan untuk pertumbuhan eksplan.

Menurut George dan Sherrington (1984), kalus merupakan massa sel yang belum terdeferensiasi. Pertumbuhan kalus pada umumnya dimulai dari

bagian jaringan yang mengalami perlukaan karena adanya respon hormon endogen atau zat pengatur tumbuh eksogen yang ditambahkan ke dalam media. Dengan adanya rangsangan ini maka sel-sel penyusun jaringan eksplan akan berubah dari bentuk non aktif menjadi aktif. Jadi penambahan zat pengatur tumbuh kedalam media sangat diperlukan untuk memacu pertumbuhan kalus.

Zat pengatur tumbuh yang sering digunakan dalam kultur *in vitro* yaitu auksin, sitokinin, maupun keduanya (George dan Sherrington, 1984). Auksin yang umum digunakan adalah IAA, NAA dan 2,4-D dengan konsentrasi antara 0,01 – 10 mg/l. Sedangkan yang termasuk sitokinin antara lain BAP, kinetin, zeatin, serta 2-iP (2-isopentenil adenin), dan yang sering digunakan dalam kultur *in vitro* adalah BAP, karena BAP lebih stabil dan lebih tahan terhadap oksidasi.

Media yang sering digunakan sebagai media untuk induksi kalus dalam kultur *in vitro* adalah media MS, karena media MS mengandung nitrat, kalium, dan amonium yang tinggi. Media MS mengandung unsur-unsur hara yang layak untuk memenuhi pertumbuhan eksplan yang dikulturkan (Wetter dan Constabel, 1991).

Pada penelitian Srivastava et al (1989) kalus dapat tumbuh pada media MS dengan penambahan BAP 1 mg/l dan NAA 0,1 mg/l dengan eksplan hipokotil dan kotiledon tanaman semangka tanpa biji.

Pratiwi (1997) juga mengkulturkan eksplan hipokotil dan kotiledon semangka tanpa biji dengan mengkombinasikan ZPT NAA konsentrasi 0 ; 0,1

; 0,3 dan 0,6 mg/l dengan BAP konsentrasi 0 ; 0,2 ; 0,4 dan 0,6 mg/l pada medium MS . Dari ke-16 perlakuan tersebut, kalus paling cepat terbentuk dari eksplan hipokotil yang ditanam pada medium MS dengan penambahan BAP 0,6 mg/l dan NAA 0,6 mg/l.

