BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Taksonomi dan Morfologi Tanaman Kenanga

Tanaman kenanga (*Cananga odorata* HOOK. f & TH.) umumnya merupakan pohon yang tingginya mencapai 5-40 meter atau perdu yang tingginya dapat mencapai 3 meter dan bertajuk lebar. Tanaman ini dalam klasifikasi termasuk dalam suku Anonaceae. Klasifikasi selengkapnya adalah :

Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Ranales
Suku	: Annonaceae
Marga	: Cananga
Jenis	: *Cananga odorata* Hook F dan Thoms (Steenis, 1987)

Tanaman kenanga berdaun tunggal, berbentuk bulat telur dengan pangkal berlekuk dan ujungnya runcing. Panjang daun 10-23 cm sedangkan lebarnya 4,5-14 cm. Daun bertangkai, tersusun berseling dan tidak berdaun penumpu. Bunga berbentuk bintang, berwarna hijau ketika masih muda dan berwarna kuning setelah masak, berbau harum, tunggal atau berkelompok pada tangkai bunga dengan 2-5 bunga setiap karangan. Kelopak bunga berjumlah 3, berbentuk lidah, bertaut pada dasarnya dan berbulu. Pada waktu muda berwarna hijau sedangkan

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

setelah tua berwarna kuning kehitaman. Mahkota bunga umumnya berjumlah 8-9, berbentuk pita, berdaging, terlepas satu dengan yang lain dan tersusun dalam 2 lingkaran. Dasar bunga berbentuk bundar pipih dan menggembung. Benang sarinya banyak dan bertangkai pendek sedangkan putiknya bertangkai pendek dengan kepala putik berbentuk bundar dan berlendir. Buah tanaman kenanga berwarna hijau tua, berbentuk oval, berdaging tebal dan umumnya mengelompok 6-10 buah pada 1 tangkai utama. Pada setiap buah terdapat 8-12 biji yang tersusun dalam 2 baris, berbentuk bundar, pipih, berkulit keras dan berwarna coklat. (Steenis, 1987)

B. Distribusi dan Perbanyakan Tanaman Kenanga

Berdasarkan Sunanto (1993), tanaman kenanga dapat tumbuh di dataran rendah maupun dataran tinggi dengan ketinggian 1-1200 m di atas permukaan laut. Tanaman ini dapat tumbuh lebih baik bila kondisi tanah subur, gembur dan memiliki drainase yang baik. Bunga akan tumbuh dengan lebat jika di tanam di daerah dengan ketinggian 20-700 m diatas permukaan laut, beriklim panas dan lembab.

Sunanto juga menjelaskan bahwa ada beberapa jenis tanaman kenanga antara lain : *C. odorata*, *C. latifolia*, *C. scorthecini* dan *C. brandisanum*. Namun di Indonesia hanya dikenal 2 jenis kenanga yaitu : *C. odorata* dan *C. latifolia*. Jenis tanaman kenanga yang menghasilkan minyak atsiri yang sering disebut minyak ylang-ylang adalah *C. odorata*.

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

Ditambahkan pula, tanaman kenanga dapat dikembangkan secara generatif melalui bijinya dan secara vegetatif yaitu dengan cara stek dan cangkok. Namun demikian cara stek dan cangkok hanya dapat dilakukan untuk tanaman kenanga berbentuk perdu yaitu *C. odorata* varietas *nana* dan varietas *fruticosa.* Sedangkan kenanga berbentuk pohon yaitu *C. odorata forma macrophylla dan forma genuina* sangat sulit dikembangkan dengan cara stek dan cangkok. Umumnya pengembangan tanaman kenanga berbentuk pohon masih dilakukan melalui biji. Namun cara perbanyakan ini kurang efisien sebab diperlukan suatu perlakuan untuk mempercepat perkecambahan yaitu dengan menggosok kulit biji yang keras dengan kertas amplas sehingga kulit biji menjadi lebih tipis. Cara ini sering dilakukan sebab penggunaan KNO_3 dengan kadar 0,2% sebagai perangsang tumbuh ternyata tidak memberi hasil yang baik. Selain itu tanaman baru hasil perbanyakan secara generatif memiliki sifat yang berbeda dengan induknya dan usia produktifnya lebih lambat daripada tanaman yang berasal dari perbanyakan secara vegetatif.

C. Teknik Kultur *In Vitro*

Menurut George dan Sherrington (1984) teknik kultur *in vitro* adalah teknik perbanyakan tanaman dengan menggunakan bagian tanaman yang berukuran kecil (eksplan), yaitu berupa sel, jaringan atau organ tanaman dan dipelihara pada medium khusus dalam kondisi aseptik (bebas dari patogen)

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

Teknik kultur *in vitro* menggunakan prinsip bahwa jika suatu bagian tubuh tanaman baik sel, jaringan atau organ tanaman (eksplan) diletakkan dan dipelihara dalam suatu medium yang sesuai maka sel-selnya akan mempunyai kemampuan membelah kembali, berproliferasi menjadi banyak sel dan akhirnya menjadi massa sel yang tidak terdeferensiasi yang dikenal dengan istilah kalus. Kalus diharapkan dapat berdeferensiasi kembali membentuk jaringan, organ dan akhirnya menjadi individu baru atau *plantlet*. (George dan Sherrington, 1984).

Pelaksanaan teknik kultur *in vitro* adalah berdasarkan teori sel dari Schleiden dan schwann yang menyatakan bahwa sel sebagai satuan biologis terkecil mampu melaksanakan segala aktivitasnya seperti metabolisme, reproduksi dan tumbuh. Kemampuan sel ini disebut totipotensi, yaitu kemampuan sel untuk melakukan regenerasi bagian-bagian yang diperlukan untuk tumbuh menjadi tanaman yang sempurna. Sebab sel hidup pada tanaman selalu tetap mempertahankan informasi genetik yang diperlukan untuk perkembangan secara normal (Street, 1972)

Keberhasilan regenerasi pada kultur *in vitro* dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu komposisi medium, faktor eksplan dan lingkungan kultur (George dan Sherrington, 1984; Katuuk, 1989)

D. Medium Kultur *In Vitro*

Komposisi medium kultur sangat berpengaruh terhadap proses pertumbuhan dan perkembangan eksplan yang ditanam secara *in vitro*. Medium

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

yang digunakan sebagai sumber makanan adalah senyawa anorganik maupun senyawa organik yang diperlukan untuk pertumbuhan eksplan. Komponen media untuk kultur jaringan terdiri atas semua zat yang diperlukan untuk menjamin pertumbuhan eksplan, yaitu air, garam anorganik, asam amino, sumber energi, vitamin, zat pengatur tumbuh, agar dan substansi organik kompleks (Katuuk, 1989; Street, 1972).

1. Air

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

2. Garam-Garam Anorganik

George dan Sherrington (1984) menyatakan bahwa garam-garam anorganik yang diberikan dalam medium kultur *in vitro* terdiri atas unsur makro dan mikro. Unsur hara makro meliputi C, H, O, N, P, K, Ca, Mg dan S, dibutuhkan dalam jumlah besar untuk pertumbuhan dan perkembangan jaringan tanaman. Unsur-unsur makro tersebut biasanya diberikan dalam bentuk NH_4NO_3, KNO_3, $CaCl_2$. $2H_2O$, $MgSO_4$. $7H_2O$ dan KH_2PO_4.

Sedangkan unsur-unsur hara mikro meliputi unsur besi (Fe), Mangan (Mn), Seng (Zn), Boron (B), Molibden (Mo), Iod (I), Tembaga (Cu) dan cobalt

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

(Co) dan diberikan pada medium kultur *in vitro* dalam bentuk Fe Na_2EDTA, $MnSO_4$. $4H_2O$, KI, $ZnSO_4.7H_2O$, $CuSO_4.5H_2O$, $Na_2MoO_4.2H_2O$, $CoCl_2.6H_2O$ dan H_3BO_3.

Hingga saat ini dikenal beberapa jenis medium dengan komposisi kimia yang berbeda dan dapat digunakan untuk kultur *in vitro* dari tanaman tertentu. Misalnya, medium Vacin dan Went sangat baik untuk medium tumbuh Anggrek tetapi tidak cocok sebagai medium tumbuh tanaman yang lain, ini dikemukakan oleh Sriyanti dan Wijayani (1994). Sedangkan medium yang sering digunakan untuk sebagian besar spesies tanaman yang termasuk dikotil dan monokotil adalah medium Murashige dan Skoog (Dixon, 1985 *dalam* Sujatmiati, 1997)

Menurut Sriyanti dan Wijayani (1994), pada penelitian-penelitian kultur *in vitro,* medium MS sering digunakan untuk induksi kalus. Dalam Suryowinoto (1996) disebutkan bahwa medium MS memiliki unsur-unsur dan persenyawaan yang lebih lengkap dibandingkan medium yang lain. Menurut Street (1972) kadar mineral dalam medium MS relatif lebih tinggi dibandingkan medium lain. Medium MS mempunyai keistimewaan yaitu memiliki kandungan mikronutrien yang tinggi. Staba (1980) menambahkan bahwa umumnya mineral-mineral ini akan mendukung pertumbuhan sel-sel tanaman dalam kultur *in vitro*. Sebab pada medium MS nitrogen tersedia dalam bentuk campuran nitrat dan amonia sehingga kebutuhan nitrogen akan selalu terpenuhi.

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

3. Asam Amino

Menurut George dan Sherrington (1984) asam amino merupakan sumber nitrogen yang dapat dimanfaatkan secara langsung oleh jaringan tanaman daripada nitrogen yang terdapat dalam bentuk nitrogen anorganik. Asam amino adalah bahan pembangun protein.

Setiap jenis asam amino memberikan pengaruh yang berbeda untuk setiap jenis kultur. Beberapa asam amino memang dibuktikan mempunyai pengaruh positif terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksplan. Misalnya, L-sistein dapat mengurangi *browning* pada kultur jaringan tebu, seperti yang ditemukan oleh Liu (1981) dalam Gunawan (1988). Sedangkan asam amino glisin merupakan komposisi tetap pada beberapa formulasi medium dengan konsentrasi 2 mg/l (White, 1939 *dalam* Gunawan, 1988).

4. Sumber Energi (Karbohidrat)

Bahan kimia organik yang biasa dipakai sebagai sumber energi dalam kultur *in vitro* adalah karbohidrat. Karbohidrat tersusun dari unsur C, H dan O sebagai elemen penyusun utama. Bahan-bahan organik yang termasuk karbohidrat meliputi gula, pati dan sellulosa. Karbohidrat mempunyai 2 fungsi utama yaitu sebagai sumber energi untuk jaringan dan untuk keseimbangan tekanan osmotik dalam medium. Karbohidrat yang paling sering digunakan adalah sukrosa atau D-glukosa.

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

Menurut Suryowinoto (1996) medium yang dipakai untuk menginduksi pembentukan kalus menggunakan gula sukrosa dengan kadar antara 2-7 %. Katuuk (1989) menerangkan bahwa sukrosa bersifat labil terhadap suhu tinggi sehingga apabila disterilkan menggunakan autoklaf bersama-sama zat lain, mengakibatkan penguaraian sukrosa menjadi kombinasi antara sukrosa, D-glukosa dan D-fruktosa.

5. Vitamin

Vitamin adalah bahan yang perlu ditambahkan dalam medium kultur *in vitro,* sebab apabila sel tanaman dipelihara secara *in vitro* bagian tanaman yang dikulturkan belum mampu membuat vitamin untuk kehidupannya (Katuuk,1989).

Vitamin yang paling sering ditambahkan dalam medium kultur adalah thiamin (vitamin B1), asam nikotinat (niasin), dan piridoksin (vitamin B6). Myo-inositol tidak essensial untuk beberapa tanaman, tetapi dalam jumlah kecil biasanya diberikan sebagai zat suplemen karena bermanfaat untuk mendorong pertumbuhan dan morfogenesis. (George dan Sherrington, 1984).

Selain vitamin B, vitamin yang sering digunakan dalam kultur *in vitro* adalah vitamin C (asam askorbat) terutama digunakan untuk mencegah terjadinya pencoklatan (*browning*) yang disebabkan adanya oksidasi senyawa fenol.

6 Zat Pengatur Tumbuh (ZPT)

Zat pengatur tumbuh (ZPT) adalah senyawa organik bukan hara yang dalam jumlah sedikit dapat mendukung, menghambat dan dapat merubah proses

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

fisiologi tumbuhan (Abidin, 1985). Selain itu dijelaskan pula oleh Gunawan (1988) bahwa ZPT mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis dalam kultur sel, jaringan dan organ secara *in vitro*. Arah perkembangan kultur ditentukan oleh interaksi dan perimbangan antara ZPT yang diberikan dalam medium kultur dan ZPT yang diproduksi oleh sel tanaman secara endogen. Walaupun pada eksplan terdapat ZPT endogen tetapi seringkali dalam medium masih perlu ditambah ZPT eksogen untuk memacu pertumbuhan dan perkembangan eksplan yang ditanam secara *in vitro*.

Dewasa ini dikenal beberapa golongan zat pengatur tumbuh (ZPT). ZPT yang bersifat mendukung perkembangan tanaman yaitu auksin, sitokinin dan giberellin, sedangkan yang bersifat menghambat (inhibitor) adalah asam absisat, gas etilen dan senyawa-senyawa fenolik (Wattimena, 1988).

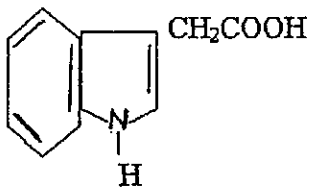
Menurut Katuuk (1989) ZPT yang paling banyak digunakan dalam kultur *in vitro* adalah auksin dan sitokinin.

a. Auksin

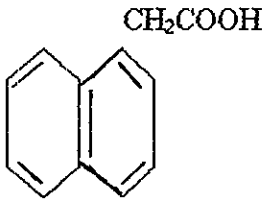
Berdasarkan Wattimena (1998), auksin alamiah yang sering terdapat pada tumbuhan adalah IAA (3-Indol Asam Asetat). IAA disintesis dari triptofan pada bagian tanaman tertentu yaitu primordia daun, daun muda dan biji yang sedang berkembang. Sedangkan auksin sintetik yang sering digunakan adalah: NAA (Naftalen Asam Asetat), 2,4 D (2,4- Diklorofenoksi Asam Asetat) dan IAB (3-Indol Asam Butirat).

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

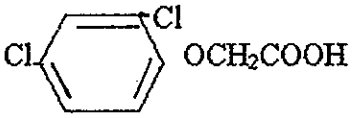
Rumus bangun dari masing-masing zat pengatur tumbuh tersebut adalah:



IAA



NAA



2,4 D

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 medium yang mengandung IAA lebih cepat terdeteriorasi (mengalami kerusakan) daripada medium yang mengandung NAA terutama jika tidak didinginkan. Menurut Gamborg dan Wetter (1970) dalam Sriani (1982), 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 lain yang lebih stabil daripada IAA adalah 2,4 D. Pemakaian 2,4 D pada kultur *in vitro* untuk tanaman dikotil sebaiknya dibatasi, sebab 2,4 D dikenal sebagai herbisida karena sifat fitotoksisitasnya tinggi. Peran fisiologis auksin dalam kultur *in vitro* adalah

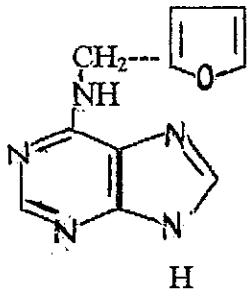
This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

mendorong perpanjangan dan pembesaran sel dalam pertumbuhan kalus, suspensi sel dan pertumbuhan akar (Wattimena, 1988).

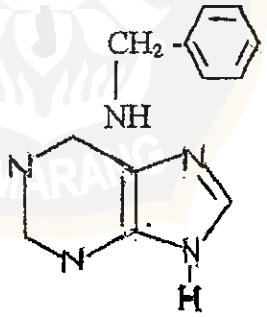
b. Sitokinin

Dalam George dan Sherrington (1984) disebutkan bahwa sitokinin adalah kelompok zat pengatur tumbuh yang sangat penting dalam pengaturan pertumbuhan dan morfogenesis pada kultur *in vitro*. Hal ini didukung oleh pernyataan Wattimena (1988) bahwa sitokinin menyebabkan peningkatan pembelahan sel yaitu dalam proses sitokinesis.

Menurut George dan Sherrington (1984) sitokinin yang pertama ditemukan adalah kinetin (6-furfuril amino purin), yaitu sitokinin yang mampu merangsang pembelahan sel dari kalus tembakau pada penelitian Skoog (1965). Sitokinin lainnya adalah Zeatin, 2-ip (N^6-isopentenil adenin) dan BAP/BA (6-Bensil Amino Purin/6-Bensil Adenin). Rumus bangunnya adalah:



KINETIN



BAP

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

Kinetin dan BAP lebih sering digunakan sebab jauh lebih murah dan tahan terhadap degradasi.

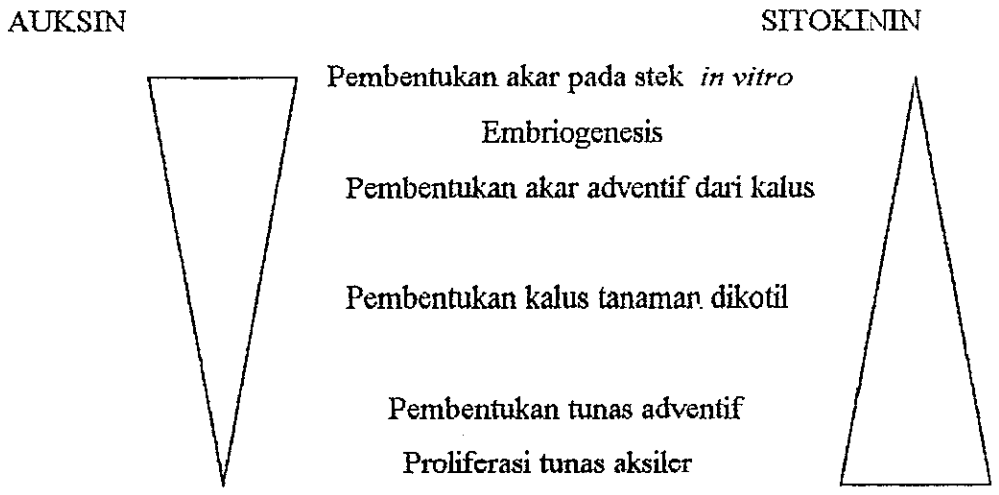
Pengaruh sitokinin dalam kultur *in vitro* berhubungan dengan proses pembelahan sel, yaitu pada sintesis RNA dan sintesis protein. Dalam proliferasi sel-sel kalus pada beberapa tanaman dikotil, walaupun auksin memegang peranan utama, tetapi kehadiran sitokinin sangat dibutuhkan. (Wattimena,1988)

Dari hasil penelitian Nitsch dan Bui (1967 *dalam* George dan Sherrington 1984) proliferasi sel-sel eksplan tembakau dapat terjadi setelah sitokinin sintetik dan auksin dtambahkan secara berturutan ke medium dasar.

Dalam kultur *in vitro* morfogenesis dari eksplan selalu tergantung dari interaksi antara auksin dan sitokinin. Perbandingan sitokinin dan auksin menentukan suatu kalus akan membentuk tunas adventif, akar atau keduanya.

Penambahan auksin dan sitokinin bersama-sama di dalam medium harus memperhatikan kadar dan perbandingannya. Skoog dan Miller (1957 *dalam* George dan Sherrington, 1984) menjelaskan pengaruh interaksi antara auksin dan sitokinin dalam menentukan jenis-jenis pertumbuhan eksplan seperti yang dijelaskan gambar berikut:

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)



Gambar 2.1. Skema jumlah relatif auksin dan sitokinin yang diperlukan dalam beberapa proses morfogenesis (George dan Sherrington,1984)

Dari skema diatas dapat diketahui bahwa untuk membentuk kalus dibutuhkan kombinasi auksin dan sitokinin dengan perbandingan konsentrasi yang sama.

7. Antioksidan

Menurut George dan Sherrington (1984) jaringan tanaman berkayu lebih banyak mengeluarkan senyawa-senyawa ke dalam medium, salah satunya adalah senyawa fenolik. Permasalahan pencoklatan pada medium disebabkan oleh adanya oksidasi senyawa fenolik ini.

Aktivitas enzim yang berhubungan dengan biosintesa dan oksidasi senyawa fenol dipacu oleh adanya cahaya. Berdasarkan Wattimena (1988) intensitas cahaya yang tinggi dapat meningkatkan produksi senyawa fenolik yang dapat mengganggu aktivitas zat pengatur tumbuh.

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

Untuk mencegah terjadinya peristiwa pencoklatan pada eksplan, Wetherell (1982) mengemukakan bahwa asam askorbat dan asam sitrat dapat dipakai sebagai zat antioksidan. Berdasarkan George dan Sherrington (1984) arang aktif juga dapat digunakan untuk mencegah peristiwa pencoklatan sebab arang aktif mempunyai sifat absorbsi yang sangat kuat terhadap senyawa fenolik. Sedangkan polivinil pirolidon mampu menghambat aktivitas enzym polifenol oksidase sehingga oksidasi senyawa fenol terhambat (Anonim, 1960 *dalam* Darminto dan Suryowinoto, 1994)

8. Bahan Pemadat

Bila dilihat dari kondisi fisiknya, medium kultur *in vitro* dapat dibedakan menjadi dua, yaitu medium cair dan medium padat. Seperti yang dijelaskan dalam Street (1972), medium padat sering digunakan untuk perkembangan dan pemeliharaan kultur kalus. Sedangkan untuk mendapatkan pertumbuhan dan perkembangan sel secara individual dapat menggunakan medium kultur cair yang diagitasi sehingga diperoleh suspensi sel. Selanjutnya jika sel ditumbuhkan pada medium padat, maka sel tersebut tumbuh dan berkembang menjadi sekelompok sel yang pada akhirnya akan mengalami diferensiasi menjadi jaringan, organ dan tumbuhan yang sempurna.

Medium cair merupakan campuran senyawa-senyawa kimia dengan air suling sedangkan pada medium padat ditambah bahan pemadat seperti agar, gelatin, gel dari keturunan pati dan silika gel (Wetherell, 1982).

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

Bahan pemadat yang sering digunakan adalah agar dengan kadar 0,6-0,8% (Katuuk,1989). Staba (1980) menambahkan bahwa agar dengan kadar 8gr/lt cukup untuk berbagai macam tujuan karena konsentrasi agar yang tinggi dapat menghambat pertumbuhan jaringan tanaman pada medium kultur.

E. Eksplan

Eksplan adalah bagian dari tanaman (dapat berupa sel, jaringan atau organ) yang digunakan sebagai bahan tanam dalam kultur *in vitro*. Bagian tanaman yang digunakan sebagai eksplan sebaiknya merupakan bagian yang mempunyai sel aktif membelah dan berasal dari induk yang sehat dan berkualitas. Ambarwati (1987) mengemukakan bahwa meskipun pada prinsipnya semua sel dapat ditumbuhkan tetapi sebaiknya eksplan dipilih dari bagian tanaman yang masih muda, yaitu daun muda, ujung akar, ujung batang, keping biji dan sebagainya.

Bahan eksplan dapat diambil langsung dari tanaman dewasa yang tumbuh di lapangan (eksplan *in vivo*) atau dari tanaman yang dikecambahkan secara *in vitro*. Penyediaan bahan eksplan *in vivo* tidak membutuhkan waktu yang lama dibandingkan jika eksplan diperoleh dari pengecambahan *in vitro*. Namun sterilisasi yang dilakukan harus lebih cermat karena eksplan *in vivo* masih mengandung banyak mikroorganisme, karena berasal dari tempat yang tidak steril.

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

Sterilisasi bahan eksplan dari berbagai kontaminan yang berupa debu, kotoran dan mikroorganisme, harus dilakukan sebelum eksplan ditanam dalam medium kultur. Kontaminan yang berupa jamur dan bakteri bila tidak dihilangkan akan tumbuh dengan cepat pada medium kultur karena tersedia kandungan berbagai macam nutrisi. Bila keadaan ini dibiarkan, dalam waktu beberapa hari eksplan akan tertutup kontaminan dan akhirnya mati.

Menurut Gunawan (1988) terdapat 2 macam kontaminan yang perlu diatasi yaitu kontaminan internal dan eksternal (permukaan) Sterilisasi terhadap kontaminan internal umumnya diatasi dengan pemberian antibiotik atau fungisida.

Sedangkan terhadap kontaminan eksternal, setiap organ tanaman yang akan digunakan sebagai eksplan memiliki cara sterilisasi yang berbeda-beda. Berdasarkan Street (1972) eksplan yang berupa biji sebelum disterilisasi, direndam terlebih dahulu dalam etanol absolut selama 10 detik, kemudian direndam dalam larutan kalsium hipoklorit ($CaOCl_3$) 10% selama 20-30 menit. Jika eksplan diambil dari bagian buah, maka buah tersebut sebaiknya dicuci terlebih dulu dengan etanol absolut dengan cepat, kemudian disterilisasi dengan merendammya dalam larutan sodium hipoklorit selama 10 menit. Kemudian bagian dari buah yang akan digunakan sebagai eksplan dapat dikeluarkan. Sedangkan jika organ daun digunakan sebagai eksplan, maka permukaan daun tersebut sebaiknya digosok dengan etanol absolut sebentar kemudian direndam dalam larutan merkuri klorida ($HgCl_2$) 0,1 % selama 1 menit. Setelah proses-

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

proses sterilisasi tersebut, organ harus dibilas dengan akuades steril berulang-ulang sebelum ditanam ke dalam medium kultur.

F. Lingkungan Kultur

Faktor-faktor fisik lingkungan harus dipenuhi untuk kultur *in vitro*, karena dapat mempengaruhi proses pertumbuhan dan perkembangan eksplan. Faktor-faktor fisik yang dimaksud adalah:

1.pH Medium

pH medium merupakan faktor lingkungan eksplan yang sangat menentukan. Pengaturan pH perlu dilakukan untuk menjaga keasaman medium pada nilai pH yang paling baik untuk pertumbuhan sel, yaitu antara 5-6 (Katuuk, 1989)

Manfaat pH dalam medium adalah untuk menjaga kestabilan membran sel, mengatur garam-garam agar tetap dalam bentuk terlarut dan untuk membantu penyerapan zat hara (George dan Sherrington, 1984)

Menurut Sriyanti dan Wijayani (1994) bila eksplan mulai tumbuh dan nutrien mulai habis maka pH medium kultur menjadi semakin tinggi. Tetapi dalam medium yang mengandung kadar garam yang tinggi kemungkinan terjadi penyimpangan pH, semakin kecil.

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

2. Cahaya

Sumber cahaya yang sering digunakan dalam kultur *in vitro* adalah lampu fluoresensi yang berwarna putih. Lampu jenis ini memancarkan cahaya yang lebih merata dan suhu yang ditimbulkan relatif sangat rendah. (Wetherell,1982)

Dalam Katuuk (1989) dikemukakan bahwa intensitas cahaya diukur dengan *foot candle* (fc), Watt atau *lux*. 1fc=0,02 Watt = 10,764 *lux*. Intensitas cahaya yang optimum untuk kultur *in vitro* pada tahap pembentukan dan pertumbuhan kalus adalah sekitar 1000 *lux*. Intensitas cahaya optimum dapat dicapai dengan menempatkan wadah-wadah kultur pada rak seluas 120-240 cm x 50 cm dan berjarak 45-50 cm. Pada umumnya periode penyinaran yang dipakai dalam kultur *in vitro* adalah selama 16 jam sehari (Staba, 1980)

3. Suhu

Beberapa penelitian kultur *in vitro* menyebutkan bahwa pemakaian suhu konstan yang baik adalah antara 20-28^{0}C (68-82^{0}F). Menurut Staba (1980) kultur *in vitro* membutuhkan suhu antara 25-27°C 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* atau AC. (Wetherell,1982).

4. Kelembaban relatif

Kelembaban dalam ruang kultur sebaiknya diperhatikan sebaik mungkin agar dapat mendukung kelangsungan hidup tanaman dalam wadah kultur. Apabila

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

kelembaban ruang terlalu tinggi akan menyebabkan terjadinya pertumbuhan mikrobia di luar wadah kultur dan alat-alat. Sehingga spora-spora akan beterbangan dalam ruang kultur dan akan menaikkan derajat kontaminasi. Jika kelembaban ruang rendah maka penguapan air dari medium kultur akan terlalu besar. Untuk mencegah penguapan yang berlebihan maka rak-rak atau tempat meletakkan wadah kultur dapat dimasukkan dalam kantong plastik besar yang juga akan mengurangi terjadinya kontaminasi (Wetherell, 1982)

G. Penelitian Kultur *In Vitro* Tanaman Berkayu

Medium dasar yang biasa digunakan untuk pembentukan dan pertumbuhan kalus dari jaringan tanaman berkayu adalah medium Murashige dan Skoog atau medium *Woody Plant Medium* (WPM). Pembentukan kalus dari tanaman berkayu yang sebagian besar termasuk tanaman dikotil dapat dipacu dengan pemberian zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin. Biasanya kalus terbentuk jika perbandingan konsentrasi antara auksin dan sitokinin seimbang (George dan Sherrington, 1984; Widyastoety, 1985 *dalam* Karsinah, 1991)

ZPT auksin yang sering digunakan untuk pembentukan kalus adalah NAA atau 2,4 D sedangkan sitokinin yang sering diberikan untuk mendukung pertumbuhan sel-sel kalus adalah BAP atau kinetin (golongan sitokinin).

Manuhara dan Setiti (1997) menggunakan medium MS yang diberi 2 mg/l NAA dan 3 mg/l BAP untuk menginduksi kalus dari eksplan daun kantil (*Michelia alba* D.C). Sedangkan Karsinah (1991) memperoleh kalus dari eksplan

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

tangkai daun Durian (*Durio zibethinus* Murr) yang ditanam pada medium WPM + 0,5 mg/l NAA + 0,5 mg/l kinetin dan medium WPM + 0,5 mg/l 2,4 D + 0,5 mg/l BAP.

Pada penelitian yang lain menunjukkan bahwa pemberian ZPT sitokinin tidak diperlukan atau bahkan dapat menghambat pertumbuhan kalus. Seperti penelitian yang dilakukan oleh Semiarti (1991 *dalam* Sriyanti dan WIjayani, 1994) bahwa untuk pembentukan kalus kenanga yang berasal dari eksplan yang berupa daun dan batang, hanya memerlukan penambahan ZPT golongan auksin yaitu 2 mg/l NAA + 0,5 mg/l 2,4 D pada medium MS yang telah dimodifikasi dengan penambahan NH_4NO_3 30mM, KH_2PO_4 1,75 mM dan sukrosa 40 g/l. Sementara itu, penghambatan BAP terhadap pertumbuhan kalus ditunjukkan oleh penelitian yang dilakukan oleh Sujatmiati (1997) yang menggunakan eksplan berupa internodus kedua dari tanaman kemuning (*Murraya paniculata.*Jack). Pada penelitian ini, penambahan BAP dengan konsentrasi 1mg/l - 5 mg/l akan menyebabkan pertumbuhan kalus terhambat dibandingkan pemberian NAA tunggal.

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)