

TESIS

**REGENERASI DAN AKLIMATISASI PERTUMBUHAN EKSPLAN BUAH
NAGA (*Hiolocereus undatus*) PADA POSISI TANAM DAN KOMPOSISI
MEDIA BERBEDA SECARA IN VITRO**

Disusun dan diajukan oleh:

RIHLAENI DUHA A. BASO

H052201005



DEPARTEMEN BIOLOGI

PROGRAM PASCASARJANA

UNIVERSITAS HASANUDDIN MAKASSAR

2021

**Regenerasi dan Aklimatisasi Pertumbuhan Eksplan Buah Naga
(*Hilocereus undatus*) Pada Posisi Tanam dan Komposisi Media Berbeda
Secara *In Vitro***

*Tesis Ini Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Magister
Program Studi Biologi Departemen Biologi Fakultas Matematika Dan Ilmu
Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin*

**Rihlaeni Duha A. Baso
H052201005**

**DEPARTEMEN BIOLOGI
PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN MAKASSAR
2021**

LEMBAR PENGESAHAN TESIS

**REGENERASI DAN AKLIMATISASI PERTUMBUHAN EKSPLAN BUAH NAGA
(*Hilocereus undatus*) PADA POSISI TANAM DAN KOMPOSISI MEDIA
BERBEDA SECARA IN VITRO**

DISUSUN DAN DIAJUKAN OLEH

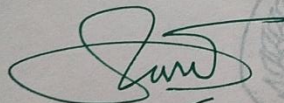
RIHLAENI DUHA A. BASO
NOMOR POKOK: H052201005

Telah dipertahankan dihadapan panitia ujian yang dibentuk dalam rangka penyelesaian studi program magister Departemen Biologi Universitas Hasanuddin pada tanggal 27 januari 2022 dinyatakan memenuhi syarat kelulusan

Disetujui oleh:

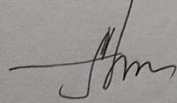
Ketua Penasehat

Sekretaris Penasehat

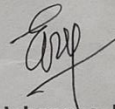


Dr. Andi Ilham Latunra, M.Si
NIP. 19670207 199203 1 001

Ketua Program Studi Biologi

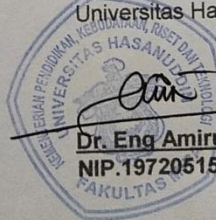


Dr. Ir. Slamet Santoso, MS.i
NIP.196207261987021001



Dr. Eva Johannes, M.Si
NIP. 196102171986012001

Dekan Fakultas MIPA
Universitas Hasanuddin



Dr. Eng Amiruddin, M.Si
NIP.1972051519970021002

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Rihlaeni Duha A. Baso
NIM : H052201005
Program Studi : Biologi
Jenjang : S2

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul

“Regenerasi dan Aklimatisasi Pertumbuhan Eksplan Buah Naga
(*Hilocereus undatus*) Pada Posisi Tanam dan Komposisi Media
Berbeda Secara *In Vitro*”

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain dan bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya sendiri.

Apanila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan isi tesis ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 27 Januari 2022

Yang menyatakan,


Rihlaeni Duha A. Baso

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Alhamdulillah Puji Syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala berkat, Rahmat, Hidayah dan Nikmatnya-Nya, serta salam dan salawat tercurah kepada junjungan Nabiullah Muhammad SAW sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisa tesis yang berjudul “Regenerasi dan Aklimatisasi Pertumbuhan Eksplan Buah Naga (*Hilocereus undatus*) Pada Posisi Tanam dan Komposisi Media Berbeda Secara *In Vitro*” sebagai salah satu syarat dalam menyelesaikan Pendidikan dan memperoleh gelar Magister Sains di Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa tesis ini masih jauh dari kesempurnaan karena menyadari segala keterbatasan yang ada. Untuk itu demi sempurnanya tesis ini, penulis sangat membutuhkan dukungan dan sumbangsih pikiran yang berupa kritik dan saran yang bersifat membangun.

Selama proses perwujudan tesis ini tidak terlepas dari dukungan dan doa yang tulus untuk penulis. Pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang sedalam-dalamnya kepada semua pihak yang dengan penuh suka cita memberikan semangat, motivasi dan bantuan selama proses pencapaian gelar magister. Oleh sebab itu dengan

kerendahan hati, penulis mengucapkan terima kasih yang sedalam-dalamnya kepada keluarga terkhusus kepada kedua orang tua, ayahanda H. A. Baso Ampo, S.Ag dan ibunda Hj. Sennawati Pae, S.Ag. Terima kasih atas dukungan yang telah diberikan kepada penulis baik moril maupun materil. Terima kasih untuk segala pengertian dan dukungan. Terima kasih karena selalu menjadi motivasi dan alasan utama penulis untuk segera menyelesaikan tesis ini, semoga ini bisa membuat ayahanda dan ibunda bahagia dan bangga.

Kepada bapak Dr. Andi Ilham Latunra, M.Si. selaku pembimbing utama dan Dr. Eva Johannes, M.Si, selaku pembimbing pertama, penulis mengucapkan banyak terimakasih atas bimbingan dan arahnya berupa kritik dan saran yang membangun dan motivasi yang telah diberikan selama penulis melaksanakan proposal, penelitian, hingga ke tahap penyusunan tesis ini. Terima kasih karena telah meluangkan waktu untuk terus memberi bimbingan dan arahan demi arahan yang sangat membantu hingga selesainya tesis ini.

Penulis juga mengucapkan banyak terima kasih kepada :

1. Dr.Eng Amiruddin. M.Sc selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin beserta seluruh jajarannya.
2. Dr.Slamet Santosa, M.Si selaku Ketua Prodi Jurusan Biologi

Pascasarjana Universitas Hasanuddin, sekaligus Penasehat Akademik, terima kasih atas segala saran dan ilmunya.

3. Dr. Zohra Hasyim, M.Si, Dr. Rosana Agus, M.Si dan Dr. Sulfahri, M.Si selaku penguji.
4. Seluruh dosen Departemen Biologi yang telah membimbing dan memberikan ilmunya kepada penulis selama perkuliahan, serta staf pegawai Departemen Biologi yang telah banyak membantu penulis dalam menyelesaikan urusan administrasi.
5. Muhammad Shaif, Mujahid Al- Qasiddin, Muhammad Haiz Abidzar, yang selalu memberi dukungan
6. Keluarga besar Ampo dg Mallebbang, Keluarga Besar Pae yang selalu memberi dukungan dan motivasi kepada penulis
7. Mansyur S.Ip dan seluruh staf UPT Balai Holtikultura Bonto-bonto yang telah membantu penulis menyelesaikan penelitian
8. Nur Alfi Hidayati. S. S.Si, sekaligus partner yang selalu memberikan bantuan dalam menyelesaikan tugas akhir
9. Nurwahidah S.Pd, Nufhadhilah Umar, S.Pd, Suhairah Amaliyah S.Pwk, Rizki Muthmainnah Amir, S.Pd, yang selaku menyemangti dan mendukung penulis
10. Teman-teman Pasca Biologi Unhas, A. Nur Ainun, S.Si, Lisa Ainayal Fatiha, S.Si, M.Si dan Sry Wahyuningsih, S.Pd yang selalu memberi dukungan serta motivasi kepada penulis selama penulis menyelesaikan tugas akhir.

11. Teman-teman pendidikan Biologi UIN Alauddin Makassar yang tidak bias saya sebut satu persatu, terimakasih atas segala dukungan kepada penulis

Penulis mengucapkan terima kasih banyak untuk semua pihak, semoga kedepannya tesis ini dapat berguna sebagai referensi tambahan bagi banyak orang.

Makassar, 24 November 2021

Penulis

ABSTRAK

Buah naga (*Hylocerus undatus*) merupakan tanaman yang berasal dari Meksiko, Amerika Tengah, dan Amerika Selatan. Saat ini tingkat konsumsi buah naga di Indonesia semakin tinggi, salah satu jenis buah naga yang digemari oleh masyarakat adalah buah naga merah. Tanaman buah naga dapat dibudidayakan sebagai tanaman pertanian yang menghasilkan komoditas unggulan dan permintaannyapun meningkat dari tahun ketahun, namun permintaan yang bisa dipenuhi baru sekitar 50% saja. Melihat kondisi penyediaan bibit tersebut maka pembibitan dapat dilakukan dengan berbagai macam cara. Untuk mendapatkan tanaman yang seragam dalam jumlah besar dengan kualitas buah yang baik sangat mungkin diperoleh dari perbanyak tanaman melalui kultur jaringan. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh regenerasi pertumbuhan eksplan buah naga (*Hilocereus undatus*) pada posisi tanam dan komposisi media berbeda secara invitro. Pada varietas buah naga dilakukan penambahan hormon sintetik yaitu BAP dan NAA. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli sampai September 2021 di Laboratorium Kultur Jaringan, Fakultas Ilmu Pengetahuan dan Alam, Universitas Hasanuddin Makassar. Metode Penelitian yang digunakan kuantitatif yang menunjukkan hubungan antar variabel. Pendekatan penelitian berupa eksperimental yang menerapkan prinsip-prinsip pengontrolan terhadap hal-hal yang mempengaruhi jalannya eksperimen, terdiri dari 9 perlakuan yaitu: N0 (MS), N1 (BAP 2 ml/L), N2 (BAP 3 ml/L), N3 (NAA 2 ml/L), N4 (NAA 3 ml/L), N5 (BAP 2 ml/L+NAA 2 ml/L) + N6 (BAP 2 ml/L+NAA 3 ml/L)+ N7 (BAP 3 ml/L, NAA 2 ml/L) + N8 (BAP 3 ml/L, dan NAA 3 ml/L).

Kata kunci : *Hilocereus undatus*. , Regenerasi, BAP, NAA.

ABSTRACT

Dragon fruit (*Hylocereus undatus*) is a plant originating from Mexico, Central America, and South America. Currently the level of consumption of dragon fruit in Indonesia is getting higher, one type of dragon fruit that is favored by the public is red dragon fruit. Dragon fruit plants can be cultivated as agricultural crops that produce superior commodities and the demand is increasing from year to year, but the demand that can be met is only about 50%. Seeing the condition of providing the seeds, the nursery can be done in various ways. To obtain uniform plants in large numbers with good fruit quality, it is possible to obtain plant propagation through tissue culture. This study aimed to analyze the effect of regeneration on the growth of dragon fruit (*Hilocereus undatus*) explants at different planting positions and media compositions in vitro. In dragon fruit varieties, synthetic hormones were added, namely BAP and NAA. This research was conducted from July to September 2021 at the Tissue Culture Laboratory, Faculty of Science and Nature, Hasanuddin University Makassar. The research method used is quantitative which shows the relationship between variables. The research approach is in the form of an experimental one that applies the principles of controlling the things that affect the course of the experiment, consisting of 9 treatments, namely: N0 (MS), N1 (BAP 2 ml/L), N2 (BAP 3 ml/L), N3 (NAA 2 ml/L), N4 (NAA 3 ml/L), N5 (BAP 2 ml/L+NAA 2 ml/L) + N6 (BAP 2 ml/L+NAA 3 ml/L)+ N7 (BAP 3 ml/L, NAA 2 ml/L) + N8 (BAP 3 ml/L, and NAA 3 ml/L).

Keywords: *Hilocereus undatus*. , Regeneration, BAP, NAA.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Buah naga (*Hylocerus undatus*) merupakan tanaman yang berasal dari Meksiko, Amerika Tengah, dan Amerika Selatan. Bentuknya yang eksotik, aromanya harum, dan rasanya manis membuat buah kaktus madu tersebut semakin digemari diberbagai tempat khususnya di Indonesia. (Ramal dkk, 2017).

Tanaman Buah naga (*dragon fruit*) termasuk dalam famili Cactaceae dan genus *Hylocereus*. Genus ini terdiri atas 16 spesies, yang dua diantaranya memiliki buah yang bernilai komersial, yaitu *Hylocereus undatus* dan *H. costaricensis*. Dibandingkan *H. undatus*, *H. costaricensis* memiliki keunggulan antara lain daging buah berwarna merah sehingga lebih menarik, rasa lebih manis tetapi masih muncul rasa asam segar, dan ukuran buah lebih kecil sehingga lebih cocok sebagai buah meja. (Priyono, 2015).

Saat ini tingkat konsumsi buah naga di Indonesia semakin tinggi, salah satu jenis buah naga yang digemari oleh masyarakat adalah buah naga merah. Tanaman buah naga masuk ke Indonesia sekitar tahun 2000, diimpor dari Thailand, kemudian dibudidayakan menjadi tanaman pertanian di beberapa daerah seperti Yogyakarta, Malang, Mojokerto, Bogor dan Jember (Hasan dkk, 2013).

Tanaman buah naga dapat dibudidayakan sebagai tanaman pertanian yang menghasilkan komoditas unggulan dan permintaannya pun meningkat dari tahun ketahun, namun permintaan yang bisa dipenuhi baru sekitar 50% saja. Melihat kondisi penyediaan bibit tersebut maka pembibitan dapat dilakukan dengan berbagai macam cara. Untuk mendapatkan tanaman yang seragam dalam jumlah besar dengan kualitas buah yang baik sangat mungkin diperoleh dari perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan (Effendi, 2012).

Kultur Jaringan adalah metode untuk mengisolasi bagian dari tanaman, seperti sel, sekelompok sel, jaringan, dan organ, serta menumbuhkan dalam kondisi aseptik, sehingga bagian-bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman yang lengkap. Kultur Jaringan, membudidayakan jaringan tanaman menjadi tanaman baru yang mempunyai sifat sama dengan induknya (Eka dkk, 2013).

Keberhasilan kultur jaringan sangat dipengaruhi oleh genotipe tanaman serta media yang digunakan (Yusnita, 2017). Komposisi utama media tanam kultur jaringan terdiri atas makronutrien, mikronutrien dan zat pengatur tumbuh (zpt). Zpt yang digunakan dapat berupa sintetik maupun organik.

Untuk buah naga, beberapa penelitian perbanyakan secara in vitro telah dilaporkan, antara lain penggunaan media dasar untuk pengecambahan

benih (Chaturani dan Jayatileke, 2013) dan perbanyak tunas dengan penggunaan sitokinin dan auksin (Samudin, 2016). Namun laporan mengenai aklimatisasi buah naga kultur jaringan masih sangat minim.

Menurut Basri (2014), aklimatisasi merupakan proses pengadaptasian hasil kultur jaringan terhadap lingkungan luar yang lebih ekstrim. Aklimatisasi merupakan proses penyesuaian terhadap iklim pada lingkungan baru yang merupakan masalah penting dalam budidaya tanaman menggunakan bibit dari teknik kultur jaringan. Perbedaan faktor-faktor lingkungan yang utama dari kondisi kultur jaringan dan greenhouse antara lain cahaya, suhu, kelembaban relatif, di samping hara dan media tanam sangat berpengaruh terhadap hasil akhir aklimatisasi.

Aklimatisasi sendiri merupakan tahap akhir dalam kegiatan budidaya tanaman secara kultur jaringan adalah aklimatisasi. Aklimatisasi dapat dilakukan jika planlet sudah memiliki organ lengkap yang umumnya berumur delapan hingga dua belas bulan. (Handini 2012).

Berdasarkan uraian di atas, maka penulis merasa perlu dilakukan kajian dan penelitian lebih dalam mengenai regenerasi dan aklimatisasi pertumbuhan eksplan buah naga pada posisi tanam dan komposisi media berbeda secara *in vitro*.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian pada latar belakang maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah..

1. Bagaimana pengaruh regenerasi pertumbuhan eksplan buah naga (*Hilocereus undatus*) pada posisi tanam dan komposisi media berbeda secara invitro?
2. Bagaimana pengaruh aklimatisasi pertumbuhan eksplan buah naga (*Hilocereus undatus*) pada posisi tanam dan komposisi media berbeda secara invitro?

C. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah

1. Untuk mengetahui pengaruh regenerasi pertumbuhan eksplan buah naga (*Hilocereus undatus*) pada posisi tanam dan komposisi media berbeda secara invitro?
2. Untuk mengetahui aklimatisasi pertumbuhan eksplan buah naga (*Hilocereus undatus*) pada posisi tanam dan komposisi media berbeda secara invitro?

D. Ruang Lingkup Penelitian

Dalam penelitian ini yang digunakan adalah eksplan buah naga daging merah (*Hilocereus undatus*), dilakukan dengan teknik regenerasi dan aklimatisasi. regenerasi merupakan proses pembentukan organ-organ dari suatu eksplan sedangkan aklimatisasi merupakan merupakan proses pengadaptasian hasil kultur jaringan terhadap lingkungan luar yang lebih

ekstrim (Basir, 2014). Keberhasilan kultur jaringan dipengaruhi oleh jenis atau tipe eksplan dan penambahan zat pengatur tumbuh. BAP dan NAA merupakan zat pengatur tumbuh yang banyak digunakan dalam kultur jaringan (Gunawan, 2018).

E. Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dari penelitian ini adalah

1. Untuk menunjang program pemerintah dalam meningkatkan produksi buah, dan penghematan devisa untuk import buah naga
2. Untuk meningkatkan pendapatan daerah dengan mensosialisasikan komoditi buah naga sebagai komoditi unggulan daerah setempat
3. Untuk meningkatkan pendapatan petani, khususnya petani buah naga
4. Untuk memenuhi kebutuhan konsumsi buah (khususnya buah naga) dan meningkatkan gizi masyarakat

BAB II

TINJAUAN TEORETIS

A. Buah Naga (*Hylocereus undatus*)

Dalam sistematika atau taksonomi tanaman buah naga daging putih diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Sub Divisi : Angiospermae

Klas : Dicotyledoneae

Ordo : Caryophyllales

Famili : Cactaceae

Genus : *Hylocereus*

Species : *Hylocereus undatus*

Morfologi tanaman buah naga daging putih dapat diuraikan sebagai berikut :

1. Akar

Perakaran tanaman buah naga bersifat epifit, yaitu merambat dan menempel pada batang tanaman lain. Namun, dalam pembudidayaan, media untuk merambatkan batang tanaman buah naga ini dapat digantikan dengan tiang penopang atau kawat. Perakaran buah naga sangat tahan dengan kekeringan dan tidak tahan genangan yang cukup lama. Perakaran tanaman buah naga tidak terlalu panjang dan terbentuk akar cabang. Dari akar cabang tumbuh akar rambut yang sangat kecil, lembut, dan banyak.

2. Batang

Penampang melintang batang tanaman buah naga berbentuk segitiga, memanjang hingga mampu mencapai panjang maksimum sekitar 9 meter dengan warna hijau hingga hijau tua. Batang tanaman ini mempunyai duri-duri yang merupakan ciri utama famili kaktus. Bagian batang tanaman buah ini berlapis lilin dan mampu memanjat pada tembok atau batang penopang.

3. Bunga

Tanaman buah naga mempunyai bunga yang indah berwarna putih kekuning-kuningan sehingga tak jarang orang memelihara tanaman buah naga untuk tujuan ornamental. Bunga tanaman buah naga ini mekar sempurna pada malam hari dengan panjang bisa mencapai 29 cm

4. Buah

Buah naga berbentuk bulat lonjong dengan diameter 10–12 cm, berkulit tebal. Seperti nama sebutannya jenis buah naga daging putih ini mempunyai kulit berwarna merah ketika masak, berjumbai kehijauan dan daging buah berwarna putih dengan biji-biji hitam yang bertebaran. Buah yang masak mempunyai berat rata-rata antara 700– 800 gram per buah dengan kadar kemanisan buah sekitar 10-13 briks.

5. Biji

Biji berbentuk bulat berukuran kecil dengan warna hitam. Kulit biji sangat tipis, tetapi keras. Biji ini dapat digunakan untuk memperbanyak tanaman secara generatif. Setiap buah terdapat sekitar 1.200 – 2.300 biji (Kristanto, 2013).

B. Kultur Jaringan

Kultur jaringan tanaman (plant tissue culture) atau seringkali disebut juga dengan kultur *in vitro* adalah terminologi yang digunakan untuk menggambarkan semua prosedur budidaya tanaman secara aseptik. Kultur jaringan merupakan suatu metode mengisolasi bagian dari tanaman, seperti protoplasma sel, sekelompok sel, jaringan, dan organ serta menumbuhkannya dalam media yang sesuai dan kondisi aseptik, sehingga bagian-bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman lengkap.

Menurut (Lestari, 2016) Faktor yang perlu diperhatikan dalam perbanyakan melalui kultur jaringan adalah:

1. Genotipe bahan tanaman

Genotipe dan kondisi fisiologi bahan tanaman yang digunakan sebagai eksplan merupakan kunci keberhasilan dalam perbanyakan *in vitro*.

2. Media kultur

- a. Komposisi media

Media dasar yang digunakan juga memberikan keberhasilan yang tidak sama untuk masing-masing varietas walaupun pada umumnya yang digunakan adalah media dasar MS.

- b. Jenis media

Didalam kultur jaringan ada 3 jenis medium yaitu medium padat, semi padat dan cair.

3. Zat Pengatur Tumbuh (ZPT)

Jenis dan konsentrasi ZPT yang ditambahkan ke dalam media kultur sangat berpengaruh terhadap kemampuan regenerasi tunas. Untuk pembentukan tunas biasanya yang digunakan adalah Sitokinin seperti benzyl adenine (BA), kinetin, isopentenil adenine (2-iP), zeatin dan thidiazuron (TDZ).

4. Lingkungan tumbuh

Kondisi lingkungan yang menentukan keberhasilan perbanyakan melalui kultur jaringan meliputi cahaya, suhu dan kelembapan. Cahaya yang dibutuhkan dalam mengatur proses fisiologi untuk metabolisme tanaman. Kemudian suhu ruangan untuk inkubasi dalam kultur *in vitro* diatur untuk siang maupun malam. Rata-rata suhu untuk tumbuh tanaman tropika adalah 27,7 °C dengan selang antara 24 °C sampai 32 °C. Suhu berperan penting dalam mempengaruhi laju pertumbuhan jaringan.

5. Sterilisasi bahan tanaman

Bagian tanaman yang digunakan sebagai bahan untuk inisiasi kultur disebut eksplan, sementara pemindahan kultur di media lain, baik pada media yang sama ataupun berbeda disebut subkultur.

Sterilisasi merupakan langkah awal yang cukup penting karena bahan tanaman yang akan ditanam harus bebas dari mikroorganisme. Eksplan yang berasal dari lapang yang diambil dari pohon yang umumnya sudah beberapa tahun sehingga peluang mengandung mikroorganisme sangat tinggi. Untuk meningkatkan keberhasilan sterilisasi, sebaiknya digunakan bibit yang

ditanaman di rumah kaca dan dilakukan penyemprotan dengan menggunakan fungisida seperti dithane, benlate dll.

Bahan kimia yang digunakan dalam sterilisasi adalah alkohol 70 %, klorox/bleaching 10-30% (larutan pemutih pakaian), HgCl klorox/bleaching 10-30% (larutan pemutih pakaian), HgCl₂ 0,2% dan betadine. Sterilisasi biasanya digunakan dengan cara merendam bahan tanaman dalam larutan kimia sistemik pada konsentrasi pada waktu perendaman tertentu.

Menurut (Sukmadjaja, 2014), secara rinci tahapan yang dilakukan dalam perbanyak tanaman dengan teknik kultur jaringan adalah:

1. Sterilisasi

Tahapan awal yang penting dalam teknik *in vitro* adalah sterilisasi bahan tanaman dan media sehingga terjaga kondisi yang aseptik. Bakteri dan jamur merupakan 2 kontaminan yang paling banyak dalam kultur.

- Sterilisasi LAFC (*Laminar Air Flow Cabinet*) dan ruang kultur. Sterilisasi LAFC yang paling baik adalah dengan menggunakan sinar UV. Waktu sterilisasi tergantung pada ukuran transfer dan harus dilakukan ketika tidak ada kegiatan dalam ruang tersebut. LAFC yang sudah dilengkapi UV sehingga sterilisasinya dilakukan dengan UV dan diikuti dengan membersihkan permukaan LAFC dengan alkohol 70%.
- Sterilisasi peralatan gelas dan peralatan lain. Peralatan yang terbuat dari metal, alumunium foil, gelas dan lain lain dapat disterilisasi dengan cara pengeringan di dalam oven bersuhu 130⁰-170⁰C selama 2-4 jam. Setelah disterilisasi dalam oven, peralatan diseksi atau alat tanam didalam LAFC

harus direndam dahulu ke dalam alkohol 96% kemudian dibakar diatas lampu bunsen. Teknik ini disebut sterilisasi pembakaran (*flame sterilization*).

- Sterilisasi dapat juga dilakukan dengan autoklaf. Hampir semua mikroba mati bila disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 *psi* selama 15–20 menit.

2. Pembuatan media

Terdapat beberapa jenis media yang dibuat di ruang media, namun yang sering digunakan pada umumnya adalah media MS. Masing-masing media mempunyai komposisi berbeda-beda, tergantung tujuan penggunaan. Media yang sering digunakan biasanya terdiri dari larutan makro, larutan mikro, Fe, Myo Inositol, dan vitamin, selain itu diperlukan bahan tambahan seperti gula, agar dan zat pengatur tumbuh. Zat pengatur tumbuh yang digunakan juga bermacam-macam, tergantung pada tujuan kultur jaringan yang dilakukan.

Media merupakan faktor penentu dalam kultur jaringan, komposisi media yang digunakan tergantung dengan jenis tanaman yang akan diperbanyak. Media kemudian ditempatkan pada tabung reaksi atau botol-botol kaca, media yang digunakan kemudian disterilisasi.

3. Inisiasi

Inisiasi adalah pengambilan eksplan dari bagian tanaman yang akan dikulturkan. Bagian tanaman yang sering digunakan untuk kegiatan kultur jaringan adalah tunas atau satu buku tunas

4. Sterilisasi bahan tanaman

Sterilisasi adalah segala kegiatan dalam kultur jaringan yang harus dilakukan di tempat yang steril, yaitu di LAFK dan menggunakan alat-alat yang juga steril. Eksplan yang terkontaminasi akan menunjukkan gejala seperti berwarna putih atau biru (disebabkan jamur) atau busuk (disebabkan bakteri).

5. Multiplikasi atau regenerasi eksplan

Multiplikasi adalah kegiatan menanam eksplan pada media. Kegiatan ini dilakukan di LAFK untuk menghindari adanya kontaminasi yang menyebabkan gagalnya pertumbuhan eksplan. Perbanyak melalui tunas aksilar yang paling banyak digunakan karena sifat genetisnya stabil sehingga menghasilkan tanaman yang sama dengan induknya (*true to type*). Waktu yang dibutuhkan tanaman untuk satu siklus multiplikasi tunas sangat bervariasi (berkisar 3–6 minggu) sehingga pengamatan dilakukan setiap minggu untuk melihat respon dari eksplan. Metode lain yang paling banyak digunakan adalah melalui pembentukan kalus (morfogenesis tidak langsung). Kalus adalah sekumpulan sel yang aktif membelah. Kalus dapat diarahkan untuk membentuk tunas adventif kemudian berkembang menjadi planlet atau membentuk embrio somatik yang kemudian berkembang menjadi benih somatik. Sistem perbanyak melalui jalur pembentukan kalus menghasilkan laju multiplikasi yang tinggi tetapi secara genetis tidak stabil karena tanaman yang dihasilkan sifatnya sering tidak sama dengan tanaman induk (*off-type*). Tanaman *off-type* dihindari untuk perbanyak komersial.

6. Pembentukan akar

Induksi akar adalah fase dimana eksplan akan menunjukkan adanya pertumbuhan akar yang menandai bahwa planlet *in vitro* dapat diaklimatisasi. Pengamatan dilakukan setiap hari untuk melihat pertumbuhan dan perkembangan akar serta untuk melihat adanya kontaminasi oleh bakteri ataupun jamur.

7. Aklimatisasi

Aklimatisasi adalah kegiatan memindahkan eksplan keluar dari lingkungan heterotrof ke autotrof. Pemandahan dilakukan secara hati-hati dan bertahap, yaitu dengan memberikan sungkup. Sungkup digunakan untuk melindungi bibit dari udara luar, menjaga kelembaban dan serangan hama penyakit karena bibit hasil kultur jaringan sangat rentan terhadap serangan hama penyakit dan udara luar. Setelah bibit mampu beradaptasi dengan lingkungan barunya maka secara bertahap sungkup dilepaskan dan pemeliharaan bibit dilakukan dengan cara yang sama dengan pemeliharaan bibit generatif.

Keberhasilan perbanyakan *in vitro* dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain respon tanaman, jenis media tumbuh yang digunakan dan garam-garam mineral, vitamin, ZPT yang tepat, serta kondisi lingkungan kultur (Kristina dan Syahid, 2012).

Keberhasilan dalam penggunaan metode *in vitro* sangat bergantung pada media yang digunakan. Media kultur yang memenuhi syarat adalah media yang mengandung unsur hara makro dan unsur hara mikro, vitamin,

zat pengatur tumbuh, dan glukosa dalam kadar dan perbandingan tertentu. Dari sekian banyak jenis media dasar yang digunakan dalam kultur *in vitro*, tampaknya media Murashige dan Skoog (MS) mengandung jumlah hara yang layak untuk memenuhi kebutuhan banyak jenis sel tanaman dalam kultur (Zulkarnain, 2019).

Manfaat kultur jaringan paling banyak ialah untuk memperbanyak tanaman secara massal dan cepat pada tanaman hias, tanaman hortikultura dan tanaman perkebunan. Tujuannya untuk mendapatkan bibit secara cepat dalam jumlah banyak dan seragam khususnya varietas-varietas unggul (Lestari, 2016).

Aplikasi kultur jaringan terus berkembang selain untuk memperbanyak bibit, telah diaplikasikan pula untuk penyimpanan dan pelestarian berbagai aksesori plasma nutfah yang tergolong langka. Aplikasi kultur *in vitro* lebih banyak untuk perbaikan kualitas tanaman (Lestari, 2016).

Secara umum kultur jaringan adalah suatu teknologi budidaya tanaman yang menggunakan bagian dari tanaman tersebut untuk ditumbuhkan di dalam wadah yang bening dan steril, dengan diberi media tanam yang dibutuhkan oleh bagian tanaman tersebut untuk tumbuh dan dengan kondisi lingkungan yang diatur sedemikian rupa sehingga menunjang pertumbuhan tanaman tersebut. Dalam hal ini termasuk dalam kategori sistem reproduksi vegetatif yaitu sistem reproduksi tumbuhan secara tak kawin yang terjadi secara alami tanpa adanya campur tangan dari manusia. Biasanya tumbuhan yang memiliki sistem reproduksi vegetatif alami ini akan

berkembang biak dengan bagian lainnya dari tumbuhan tersebut. Hasil reproduksi vegetatif akan menghasilkan vegetatif yang sama dengan induknya karena yang diwariskan adalah bagian somatis atau sel tubuh bukan gen kelamin.

Teknik kultur jaringan akan berhasil apabila syarat-syarat yang diperlukan terpenuhi. Syarat-syarat tersebut meliputi pemilihan eksplan sebagai bahan dasar untuk pembentukan kalus, penggunaan medium yang cocok, keadaan aseptik dan pengaturan udara yang baik. Meskipun pada prinsipnya semua jenis sel dapat ditumbuhkan, tetapi sebaiknya dipilih dari bagian meristem, misalnya daun muda, ujung akar, ujung batang dan sebagainya. Bila menggunakan embrio atau bagian-bagian biji yang lain sebagai eksplan, perlu diperhatikan kemasakan embrio, waktu imbibisi, temperatur dan dormansi (Panjaitan, 2015).

Teknik ini memberikan beberapa keuntungan yang tidak didapat dari pemakaian teknik perbanyakan vegetatif lainnya. Beberapa keuntungan yang didapat antara lain, perbanyakan tanaman dapat dilakukan dengan cepat dalam jumlah besar, hasil perbanyakan bebas dari hama, virus dan patogen karena dilakukan dalam kondisi aseptik, dapat menggunakan bagian-bagian kecil (eksplan) dari tanaman dan hasilnya dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama (Silva dalam Wijayani dan Muafi, 2016).

C. Media Tanam

Media tanam dapat diartikan sebagai tempat tinggal atau rumah bagi tanaman. Tempat tinggal yang baik adalah yang dapat mendukung

pertumbuhan dan perkembangan tanaman sehingga media tersebut harus memenuhi berbagai persyaratan sebagai berikut: dapat dijadikan tempat berpijak tanaman, mampu mengikat air dan unsur hara yang dibutuhkan untuk pertumbuhan tanaman, mempunyai drainase dan aerasi yang baik, dapat mempertahankan kelembaban disekitar perakaran tanaman, tidak menjadi sumber hama dan penyebab penyakit, mudah didapat dalam jumlah yang diinginkan dan harganya relatif murah (Agoes, 1994).

Media tanam berfungsi sebagai tempat tumbuh dan berkembangnya akar serta menahan unsur hara dan air sementara waktu, jenis dan sifat media tanam adalah mempengaruhi ketersediaan unsur hara dan air sementara waktu. Beberapa macam media tanam berbeda pengaruhnya terhadap pertumbuhan dan hasil tanaman. Perbedaan ini berhubungan dengan daya mengikat air dan unsur hara bagi tanaman serta porositas, kelembaban dan aerasi dalam media tanam (Nicholls, 2013).

Media tanam yang umum digunakan untuk pertumbuhan setek adalah tanah dan pasir. Menurut Kartasapoetra (2018), struktur tanah berperan secara langsung maupun tidak langsung terhadap pertumbuhan tanaman. Secara langsung berhubungan dengan perkembangan akar. Media yang remah menyebabkan akar terus melakukan kegiatan secara positif, baik dalam hal penyerapan unsur hara maupun perpanjangan akar sehingga berpengaruh terhadap pertumbuhan tunas. Pengaruh secara tidak langsung berhubungan dengan penyerapan dan penyimpanan air, temperatur serta tata udara tanah.

Pasir dapat dipilih sebagai bahan media tanam untuk menggantikan fungsi tanah. Berdasarkan hasil penelitian terungkap bahwa pasir masih dianggap memadai dan sesuai sebagai media untuk pertumbuhan dari perakaran setek batang tanaman. Pasir mempunyai pori-pori makro lebih banyak dibandingkan dengan tanah, sehingga mudah menjadi basah dan cepat pula kering karena proses penguapan. Kohesi dan konsistensi (ketahanan partikel terhadap proses pemisahan) pasir sangat kecil sehingga mudah terkikis oleh air atau angin (Agoes, 2014).

Media pasir membutuhkan irigasi dengan frekuensi yang tetap atau dengan aliran yang konstan untuk mencegah kekeringan. Penggunaan pasir sering dicampur dengan bahan lain yang dapat menahan air untuk mendapatkan media yang optimal (Supari, 2019).

Pasir adalah salah satu unsur tanah yang berbutir kasar dan tidak kohesif. Pasir yang digunakan sebagai media tanam bisa digunakan pasir malang (Lingga, 2016). Keunggulan media ini adalah baik untuk perakaran setek batang tanaman, gampang diperoleh, mudah disterilkan, butirannya tidak saling merapat sehingga mudah merembeskan air, meneruskan udara dan dapat dipakai berulang-ulang setelah dibersihkan lagi. Karakteristik lain dari pasir mempunyai pH 7,2 (Primantoro dan Indiani, 2019).

Bagian dari media tanam lainnya adalah arang sekam. Arang sekam merupakan hasil pembakaran dari sekam padi dengan warna hitam, banyak digunakan sebagai media secara komersial di Indonesia. Arang sekam

mengandung N 0,32 %, P 0,15 %, K 0,31 %, Ca 0,95 % dan Fe 180 ppm, Mn 80 ppm, Zn 14,1 ppm dan pH 6,8. Karakteristik lain dari arang sekam adalah ringan (berat jenis 0,2 kg/l), sirkulasi udara tinggi, kapasitas menahan air tinggi, berwarna kehitaman sehingga dapat mengabsorpsi sinar matahari dengan efektif (Wuryaningsih, 2016).

D. ZPT (Zat Pengatur Tumbuh)

Zat Pengatur Tumbuh atau disebut juga plant regulator adalah senyawa organik yang bukan hara (nutrient), yang dalam jumlah sedikit dapat mendukung (promote), menghambat (inhibit) dan dapat merubah proses fisiologi tumbuhan (Abidin, 2014).

Salah satu komponen media yang menentukan keberhasilan pertumbuhan bibit setek secara vegetatif adalah jenis dan konsentrasi ZPT yang digunakan. Jenis dan konsentrasi ZPT tergantung pada tujuan yang kita harapkan. Untuk mendorong/merangsang tumbuhnya tunas-tunas adventif, ZPT yang digunakan adalah sitokin. Jenis sitokin yang sering dipakai adalah BAP (Benzyl Amino Purine). BAP merupakan golongan sitokin aktif yang bila diberikan pada tunas pucuk akan mendorong proliferasi tunas yaitu keluarnya tunas lebih dari satu (Yusnita, 2013).

Media yang dibuat oleh Murashige biasanya mempunyai kadar sitokin 10 mg – 30 mg/l yang berfungsi untuk merangsang timbulnya percabangan aksiler. Peningkatan jumlah per cabang aksiler lebih menguntungkan daripada pembentukan pucuk secara adventif karena

pembentukan secara adventif sering terjadi berbagai macam variabilitas genetik (Indriati, 2013).

Pengaruh sitokinin pada kultur jaringan bervariasi tergantung tipe kultur dan varietas tanaman yang digunakan. Sitokinin seperti kinetin, 2-IP dan BAP (6- Benzyl Amino Purin) pada konsentrasi antara 0,1-10 mg/l aktif dalam merangsang pembentukan tunas adventif tetapi menghambat pembentukan akar (Shanti, 2015) sedangkan konsentrasi BA sekitar 5 ppm (Shanti, 2015).

Kebanyakan spesies kaktus akan tumbuh pada media $\frac{1}{2}$ MS atau $\frac{1}{2}$ BS yang dilengkapi dengan BA pada variasi konsentrasi antara 0,1-10 mg/l (Wellens, 2000). Penelitian Trisnahati (2017) pemberian BAP 2 ppm memberikan tinggi tunas tanaman buah naga yang baik, Herawan (2020) hasil kultur pucuk cendana dengan konsentrasi BAP 1 mg/l menghasilkan tunas yang baik, sedangkan Isharyati (2019) pemberian BAP 2 ppm dan 4 ppm memberikan pertumbuhan eksplan ginseng jawa yang relatif baik. Karena dalam pertumbuhan setek buah naga sering adanya hambatan dalam pembentukan tunas maka perlu dilakukan penelitian setek buah naga dengan perlakuan BAP pada berbagai konsentrasi untuk mendapatkan konsentrasi yang tepat dalam memacu pertumbuhan tunas setek.

E. Aklimatisasi

Tahap akhir dalam kegiatan budidaya tanaman secara kultur jaringan adalah aklimatisasi. Aklimatisasi dapat dilakukan jika planlet sudah memiliki organ lengkap yang umumnya berumur delapan hingga dua belas bulan.

Aklimatisasi merupakan proses penyesuaian terhadap iklim pada lingkungan baru yang merupakan masalah penting dalam budidaya tanaman menggunakan bibit dari teknik kultur jaringan (Handini 2012).

Tahapan penting dalam kultur in vitro lainnya adalah aklimatisasi. Pada tahapan ini dilakukan kegiatan perlakuan adaptasi klimatis dari suatu organisme hidup yang dipindahkan ke lingkungan baru sebagai upaya penyesuaian dan perubahan planlet dari yang terkontrol (aseptis dan heterotrof) ke dalam kondisi lingkungan yang terkendali (Torees, 2019). Proses ini bertujuan agar tanaman dapat beradaptasi sebelum berada pada lingkungan luar (Wetherell, 2012).

F. Kerangka Konseptual

Salah satu jenis buah yang sudah banyak dimanfaatkan di Indonesia adalah Buah Naga (*Hylocereus undatus*). Selain rasanya yang enak dan cukup digemari masyarakat, beberapa penelitian menyatakan bahwa buah naga memiliki khasiat untuk kesehatan manusia, seperti menurunkan kadar kolesterol dan total darah. Keunggulan dari kulit buah naga sebagai antioksidan disebabkan karena buah naga kaya akan senyawa polifenol (Ramal dkk, 2017).

Kandungan-kandungan yang dimiliki kulit buah naga yaitu senyawa betalain, fenol, flavonoid, betasianin, antosianin, alkaloid, terpenoid, tiamin, niasin, piridoksin, kobalamin, fenolik, karoten, fitoalbumin, vitamin E, vitamin A, vitamin C, vitamin B3 (*niacin*), serat, MUFA (*monounsaturated fatty acid*),

dan PUFA (*polyunsaturated fatty acid*), protein, lemak, karbohidrat, glukosa, fosfor, besi dan serat kasar. (Prakoso et al., 2017; Utami et al., 2020)

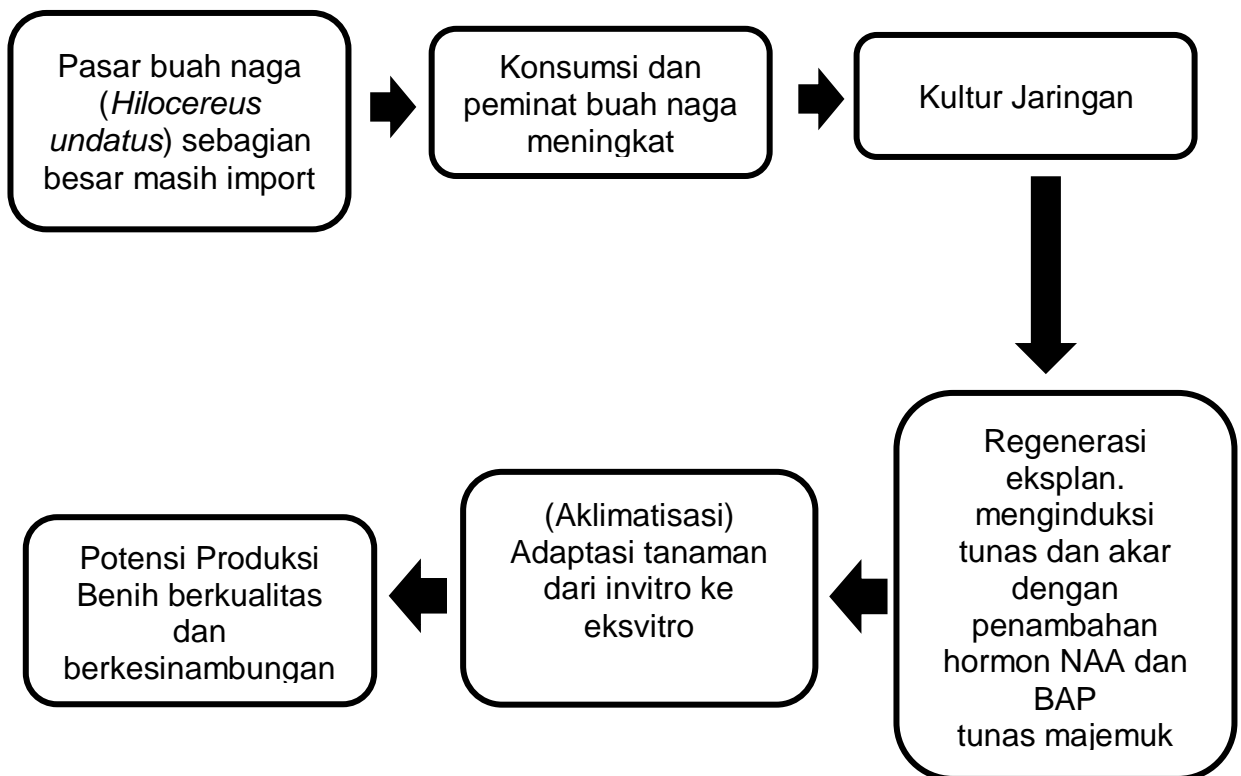
Banyaknya manfaat dari kandungan buah naga membuat banyak masyarakat yang gemar mengonsumsi buah naga. Pasar buah naga sendiri sudah mulai merambah kota-kota besar di Indonesia, namun umumnya masih berasal dari import. Pengembangan tanaman buah naga sangat mungkin dilakukan di Indonesia, karena tanaman ini cocok dibudidayakan di daerah tropis. Untuk itu perlu diantisipasi akan terjadinya permintaan bahan tanam buah naga dalam jumlah besar (Kristanto, 2003).

Untuk mendapatkan tanaman yang seragam dalam jumlah besar dengan kualitas buah yang baik sangat mungkin diperoleh dari perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan. Kultur Jaringan adalah metode untuk mengisolasi bagian dari tanaman, seperti sel, sekelompok sel, jaringan, dan organ, serta menumbuhkan dalam kondisi aseptik, sehingga bagian-bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman yang lengkap. Kultur Jaringan, membudidayakan jaringan tanaman menjadi tanaman baru yang mempunyai sifat sama dengan induknya (Eka dkk, 2013).

Seperti yang telah dilaporkan pada beberapa tanaman seperti vanili (Gati et al., 1994), kelapa sawit (Jones et al., 1995), teh (Wachira dan Ogada, 1995), kakao (Sri winarsih dan Priyono, 1995), Buah Naga karet (Cailloux et al, 1996), kopi (Priyono, 1996), kentang (Khuri dan Moorby, 1996), bunga iris (Shibli dan Ajlouni 2000), dan pisang (Priyono, 2001). Namun demikian,

sejauh pengetahuan penulis, perbanyak tanaman buah naga melalui kultur jaringan selama ini masih sangat minim dilaporkan. Dengan menggunakan pendekatan pada tanaman lainnya, maka diharapkan tanaman tersebut dapat dikembangkan melalui tehnik kultur in vitro.

Maka berdasarkan uraian diatas, dilakukanlah penelitian mengenai mengenai regenerasi dan aklimatisasi pertumbuhan eksplan buah naga pada posisi tanam dan komposisi media berbeda secara in vitro. Adapun alur penelitian yang nantinya akan dilakukan adalah sebagai berikut:



G. Hipotesis

Adapun hipotesis dari penelitian ini yaitu:

1. Memberikan pengaruh untuk induksi tunas dan akar pada proses Multipikasi dengan penambahan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) BAP dan NAA secara invitro
2. Memberikan efektifitas untuk induksi tunas dan akar pada proses Multipikasi dengan penambahan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) BAP dan NAA secara invitro
3. Memberikahn hasil yang baik untuk Aklimatisasi Tanaman buah naga (*Hilocereus undatus*) yang di pindahkan dari lingkungan Invitro ke lingkungan exvitro

H. Defenisi Operasional Variabel

Adapun definisi operasional variabel pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Zat pengatur tumbuh sintetik yang di gunakan adalah BAP (*Benzyl Amino Purine*) sebagai sitokinin dan NAA (*Naphtalene Acetic Acid*) sebagai auksin.
2. Pertumbuhan tanaman buah naga adalah perubahan yang dapat dilihat dari pertumbuhan tinggi tanaman (cm), jumlah tunas (buah), panjang akar (cm), dan jumlah akar (buah) yang diinduksi oleh ZPT sintetik. Induksi adalah proses untuk merangsang tumbuhnya tunas dan akar dari eksplan ujung apikal tanaman krisan yang ditumbuhkan dalam media kultur

jaringan dengan tujuan untuk melihat efektivitas pengaruh BAP dan NAA terhadap pertumbuhan buah naga (*Hilocereus undatus*)

3. Regenerasi tanaman dengan menginduksi tunas dan akar buah naga (*Hilocereus undatus*)
4. Aklimatisasi untuk penyesuaian planlet tanaman ke lingkungan di luar botol atau tahap akhir dari kultur jaringan untuk menghasilkan produk yang berkualitas.