

**MIKROPROPAGASI MURBEI (*Morus nigra* Linn.)
MELALUI EKSPLAN PUCUK SECARA *IN VITRO*
PADA BERBAGAI KOMBINASI ZPT**

Oleh :

A. MELIYANA ANNISA CAHYANI AMRAN

M 111 15 054



**PROGRAM STUDI KEHUTANAN
FAKULTAS KEHUTANAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2020**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Skripsi : Mikropropagasi Murbei (*Morusnigra* Linn) melalui eksplan pucuk secara in Vitro pada berbagai kombinasi ZPT
Nama Mahasiswa : A.Meliyana Annisa Cahyani Amran
Stambuk : M 111 15 054

Skripsi ini dibuat sebagai salah satu syarat untuk memperoleh

Gelar Sarjana Kehutanan

pada

Program Studi Kehutanan

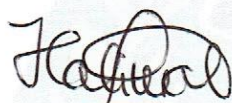
Fakultas Kehutanan

Universitas Hasanuddin

Menyetujui,

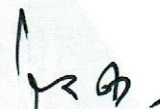
Komisi Pembimbing

Pembimbing I



Dr. Siti Halimah Larekeng, S.P., M.P
NIP. 19820209 201504 2 002

Pembimbing II



Prof. Dr. Ir. Muhammad Restu, MP.
NIP. 19650904 199203 1 003

Mengetahui,

**Ketua Program Studi Kehutanan
Fakultas Kehutanan
Universitas Hasanuddin**



Dr. Forest. Muhammad Alif K.S., S.Hut., M.Si
NIP. 19790831 200812 1 002

Tanggal Pengesahan :

ABSTRAK

**A.MELIYANA ANNISA CAHYANI AMRAN (M111 15 054).
Mikropropagasi Murbei (*Morus nigra* Linn.) Melalui Eksplan Pucuk secara
In Vitro pada berbagai kombinasi ZPT dibawah bimbingan Siti Halimah
Larekeng dan Muhammad Restu.**

Murbei (*Morus nigra* L.) merupakan tanaman dikotil yang termasuk dalam family Moraceae tanaman ini sering digunakan dalam bidang kesehatan maupun persuteraan untuk pembiakan ulat sutera. Perbanyakan murbei saat ini masih menggunakan teknologi konvensional seperti stek dan okulasi. Kendala perbanyakan murbei saat ini adalah produktivitas kebun murbei yang rendah. Teknik kultur jaringan merupakan suatu teknik mengisolasi bagian tanaman baik berupa organ, jaringan sel, dan protoplasma yang efektif dan efisien untuk mendapatkan tanaman unggul, seragam dan banyak dalam waktu yang singkat. Untuk pertumbuhan murbei diperlukan kombinasi yang tepat dalam penambahan zat pengatur tumbuh (ZPT) berupa Kinetin, IAA, IBA. Data dianalisis dengan menggunakan perangkat lunak Statistik R. Hasil penelitian menunjukkan bahwa media M6 (MS + Kinetin 1,5 + 1 IAA) merupakan kombinasi media terbaik dalam memberikan respon jumlah tunas, panjang daun, jumlah akar dan persentase eksplan hidup 80%.

Kata kunci : *Morus nigra* L, *In Vitro*, Kinetin, IAA, IBA

KATA PENGANTAR



Assalamu Alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Alhamdulillah, puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allahy SWT karena berkat limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga skripsi dengan judul “**MIKROPROPAGASI MURBEI (*Morus nigra* Linn) MELALUI EKSPLAN PUCUK SECARA *IN VITRO* PADA BERBAGAI KOMBINASI ZPT**” ini dapat diselesaikan dengan baik sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan studi pada Jurusan Kehutanan Fakultas Kehutanan Universitas Hasanuddin.

Skripsi ini diselesaikan atas arahan dan bimbingan dari berbagai pihak, baik baik secara materil maupun moril. Dengan penuh kerendahan hati penulis menghaturkan banyak terima kasih kepada Ibu **Dr. Siti Halimah Larekang SP.,MP** dan bapak **Prof. Dr. Ir. H. Muhammad Restu MP** selaku dosen pembimbing yang telah sabar meluangkan waktu, tenaga dan pikiran dalam mengarahkan dan membantu penulis menyelesaikan skripsi ini.

Penulis juga menyadari bahwa terselesaikannya skripsi ini berkat campur tangan dan bantuan berbagai pihak dan menyampaikan rasa terima kasih yang tulus kepadayang terhormat :

1. Ibu **Dr.Ir.Sitti Nuraeni, M.P** dan Bapak **Ir. Budirman Bachtiar, MP.** selaku dosen penguji yang telah memberikan bantuan, saran dan koreksi dalam penyusunan skripsi ini.
2. **Kak Mirza** dan **Kak Aminah** yang selama ini telah banyak membantu dan memberikan pengetahuan baru kepada penulis tentang ilmu bioteknologi terutama dibidang “Kultur Jaringan”.
3. **Bapak dan Ibu Staf pegawai Fakultas Kehutanan,** yang telah banyak memudahkan penulis dalam pengurusan administrasi selama penulis menempuh pendidikan di Fakultas Kehutanan.
4. **Bapak dan ibu Staf Balai Perhutanan Sosial dan Kemitraan Lingkungan Wilayah Sulawesi** yang telah memberikan eksplan selama penulis penelitian

5. Teman-teman Biotek, terkhusus anak kuljar squad “**Hasma, Junardi, Cesi, Bilal, Dhya, Jus dan Rahmatia** yang telah setia membantu selama penelitian.
6. Seluruh saudara “**VIRBIUS 15**” terkhusus untuk teman-teman Kelas B yang tidak bisa disebutkan satu-persatu namanya, terimakasih untuk segala kebersamaan, bantuan maupun dukungannya dalam suka dan duka menjalani perkuliahan hingga masa akhir semester.
7. Buat sahabatku **Jusma Susanti S.hut, Junardi, Indah Lestari syardianti SS, Ajeng Hariani S.Pd. , Rosdiana Patra S.hut** terimah kasih atas motivasi, suka dukanya, semangat serta canda tawanya yang selalu hangat untuk dikenang.
8. Teman-teman **KKN REGULER GEL.100 Kelurahan Bontomanai Kabupaten Bantaeng** terutama Ibu dan Bapak posko. Teman teman posko **Baso, Alfin, Key, Mala, Arini, Unnu, Laura dan Anil** Terima kasih atas momen kebersamaannya selama KKN yang tidak terlupakan semoga tetap terjalin selamanya.

Rasa hormat dan terima kasih yang sedalam-dalamnya penulis persembahkan kepada Ayah **A.Amran S.Sos** dan Ibu **Nursyamsi SP** adikku **A.Moch Akhzan Juzuli Amran** dan **A. Nuryah Azizah Amran** serta seluruh keluarga tercinta yang senantiasa mendoakan dan memberikan perhatian, kasih sayang, nasehat dan semangat kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan studi di Fakultas Kehutanan. Akhir kata penulis mengharapkan penyusunan skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Wassalamu’alaikum Wr.Wb.

Makassar, Desember 2019

A.Meliyana Annisa Cahyani Amran

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
ABSTRAK	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Tujuan dan Kegunaan.....	3
II TINJAUAN PUSTAKA.....	3
2.1. Murbei (<i>Morus nigra</i> Linn.)	4
2.1.1Sistematika	4
2.1.2Morfologi.....	5
2.1.3Fenologi	6
2.1.4Penyebaran	6
2.1.5 Manfaat dan Kegunaan.....	6
2.2. Kultur Jaringan.....	7
2.2.1.Pengertian Kultur Jaringan dan <i>Culture In-Vitro</i>	7
2.2.2Tahapan Kultur Jaringan	8
III METODOLOGI PENELITIAN	12
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian.....	12
3.2. Alat dan Bahan	12
3.3. Pelaksanaan Kegiatan	12
3.3.1 Sterilisasi Alat dan Bahan.....	12
3.3.2 Pembuatan Media	13
3.3.3 Persiapan dan Sterilisasi sebelum Pananaman	15
3.3.4 Penanaman Eksplan.....	16
3.4.Rancangan Penelitian.....	16
3.5.Variabel Pengamatan	18
IV HASIL DAN PEMBAHASAN	19
4.1. Kondisi Umum	19
4.2. Jumlah Tunas	19
4.3. Jumlah Daun	20

4.4. Panjang Daun.....	21
4.5. Persentase Eksplan Hidup dan Terkontaminasi	21
4.6. Panjang Akar	23
4.7. Jumlah Akar.....	23
V KESIMPULAN DAN SARAN.....	25
5.1. Kesimpulan.....	25
5.2. Saran	25
DAFTAR PUSTAKA	26
LAMPIRAN.....	28

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Judul	Halaman
Gambar 1.	Diagram Rata-Rata Jumlah Tunas.....	19
Gambar 2.	Diagram Rata-Rata Panjang Daun.....	21
Gambar 3.	Persentase Eksplan hidup dan Terkontaminasi	22
Gambar 4.	Media Perlakuan yang Menunjukkan Kontaminasi	22
Gambar 5.	Diagram Rata-Rata Panjang Akar	23

DAFTAR TABEL

Tabel	Judul	Halaman
Tabel 1.	Kombinasi Media yang Digunakan	16
Tabel 2.	Hasil Analisis Uji Poisson Pengaruh Perlakuan Media Terhadap Jumlah Daun Murbei.....	20
Tabel 3	Hasil Analisis Uji Poisson Jumlah Akar Murbei.....	24

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Judul	Halaman
Lampiran 1	Larutan stok media Kultur MS (Murashige dan Skoog 1962)..	30
Lampiran 2.	Tabel uji Krukas-Wallis Tinggi Tanaman, Panjang Daun dan Panjang Akar.....	31
Lampiran 4.	Dokumentasi Kegiatan Penelitian.....	32

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Murbei merupakan salah satu tanaman dikotil yang termasuk dalam family Moraceae. Tanaman ini sering digunakan dalam bidang kesehatan maupun persuteraan untuk pembiakan ulat sutera (Lalitha dkk, 2013). Daun murbei memiliki kandungan 1-deoxynojirimycin (DNJ) yang tinggi (Wulandari dkk, 2016). Senyawa DNJ dapat menurunkan kadar gula dalam darah, sedangkan dalam bidang persuteraan alam keberhasilan usaha persuteraan alam sangat ditentukan oleh penyediaan daun murbei sebagai makanan ulat sutera dan dimanfaatkan untuk pembuatan produk pangan (Syamsijah, 1992).

Perbanyakan tanaman murbei saat ini masih mengandalkan teknologi konvensional seperti stek dan okulasi. Budidaya dengan metode ini memiliki beberapa kekurangan diantaranya rentan terhadap hama dan penyakit serta ukuran daun yang kecil (Nursyamsi, 2010). Kendala perbanyakan tanaman murbei di Indonesia adalah produktivitas kebun murbei yang rendah, berkisar 8 ton/ha/tahun, dibandingkan produktivitas kebun di RRC yang dapat mencapai 22 ton/Ha/tahun. Teknik perbanyakan yang dapat dilakukan untuk mengatasi permasalahan tersebut adalah melalui kultur jaringan secara *in vitro*.

Kultur jaringan merupakan suatu teknik mengisolasi bagian tanaman, baik berupa organ, jaringan sel dan protoplasma yang efektif dan efisien untuk mendapatkan tanaman unggul, seragam, banyak dan dalam waktu yang relatif singkat (Basri, 2004). Salah satu bentuk aplikasi teknik kultur jaringan yang bertujuan dalam perbanyakan tanaman adalah Mikropropagasi.

Keberhasilan perbanyakan tanaman dipengaruhi oleh media dan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) yang digunakan. Menurut (Gunawan, 1987) media MS (Murashige dan skoog) adalah media yang paling sering digunakan untuk kultur jaringan karena memiliki kandungan unsur hara makro dan unsur hara mikro yang layak untuk memenuhi kebutuhan sel tanaman.

Auksin dan sitokinin paling sering digunakan dalam kultur jaringan (Umami, 2012). Sitokinin sangat berperan dalam mendorong pembelahan sel atau

jaringan yang digunakan sebagai eksplan dan merangsang perkembangan pucuk-pucuk tunas. Sitokinin berfungsi untuk mengatasi dormansi dan mempertinggi percabangan tunas lateral pada ketiak daun sedangkan auksin banyak digunakan untuk perpanjangan sel dan akar (Hu dan Wan, 1983).

Media yang ditujukan untuk mikropropagasi eksplan pucuk menggunakan ZPT yang mengandung hormon auksin berupa *Indole-3-Acetic Acid* (IAA) dan sitokinin berupa kinetin. Komposisi yang sesuai untuk kebutuhan unsur hara pada eksplan dalam pertumbuhan dan perkembangannya dengan melakukan modifikasi media mengubah jumlah unsur hara dalam media yang digunakan (Fauzy dkk 2016).

Penelitian mengenai keberhasilan kultur pucuk murbei (*Morus cathayana*) melalui berbagai metode sterilisasi dan kombinasi ZPT dilakukan oleh Gusmiaty dkk (2011) menunjukkan bahwa hasil inisiasi kultur jaringan murbei dengan perlakuan ZPT (IAA 1 ppm) memberikan pengaruh yang terbaik untuk pertumbuhan jumlah akar dan IAA 0,5 ppm + KN 1 ppm untuk pertumbuhan jumlah tunas dan daun. Penelitian mengenai multiplikasi tanaman murbei dilakukan oleh Faradilla (2017) menunjukkan bahwa media MS yang terbaik dengan BAP 2 mg/l. Hasil penelitian sebelumnya hanya terbatas pada penggunaan media MS dengan penambahan ZPT BAP sedangkan untuk kombinasi kinetin, IAA, IBA belum dilakukan. Berdasarkan hal tersebut penelitian ini penting dilakukan untuk mengetahui kombinasi media yang tepat dengan penambahan ZPT auksin berupa IAA, IBA dan Kinetin secara *in vitro* pada murbei jenis lain yaitu *Morus nigra*.

I.2 Tujuan dan Kegunaan

Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan kombinasi media terbaik dalam pertumbuhan pucuk murbei (*Morus nigra* L) secara *in Vitro*. Kegunaan penelitian ini adalah sebagai bahan informasi dalam melakukan perbanyakan tanaman murbei melalui eksplan pucuk dengan kombinasi ZPT yang tepat secara *in Vitro*.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Murbei (*Morus nigra*)

2.1.1 Sistematika

Klasifikasi murbei (*Morus nigra*) menurut (Sunanto, 1997) adalah sebagai berikut:

Divisio	: Spermathophyta
Subdivisio	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Urticales
Familia	: Moraceae
Genus	: <i>Morus</i>
Spesies	: <i>Morus nigra</i> Linn

Morus nigra merupakan nama latin dari tumbuhan murbei hitam atau *black mulberry*. Tumbuhan ini tergolong ke dalam divisio spermathophyta, sub divisio angiospermae. Murbei memiliki beberapa nama daerah antara lain *walot* Sunda, *malur* Batak, *nagas* Ambon dan *tambara merica* Makassar, selain itu juga memiliki nama asing antara lain *mulberry* Inggris, *sangye* Cina, *morera/mora* Spanyol, *moreira* Portugis dan *murier* Prancis (Balai Persuteraan Alam, 2007).

Morus nigra merupakan tanaman perdu, tingginya dapat mencapai 6 meter, tajuk jarang, cabang banyak, daun warna hijau tua dan permukaan agak kasar. Umumnya masyarakat Kabupaten Soppeng menanam jenis *Morus nigra* (Nurhaedah dkk, 2012). Tumbuhan ini mempunyai nilai ekonomi yang tinggi karena daunnya merupakan pakan utama bagi ulat sutera (Heyne, 1987). Murbei hitam adalah salah satu dari 3 spesies murbei yang paling umum selain murbei putih dan murbei ungu. Variasi konsumsi dari buah tersebut beragam mulai dari buah segar, buah kering, jus buah dan minuman beralkohol (Gundogdu. 2011).

2.1.2 Morfologi

Murbei merupakan tanaman yang berbentuk atau berhabitat semak (perdu) yang memiliki tinggi 1,5 m. Tanaman murbei juga berbentuk pohon yang kecil hingga sedang. Daunnya memiliki bentuk bulat telur. Selain itu daun murbei hitam banyak digunakan secara farmakologis di dunia terutama di China (Gundogdu , 2011).

Murbei hitam memiliki ukuran lingkaran batang 30-50 cm dengan kulit kasar dan pecah-pecah. Ranting yang berwarna merah kecoklatan dan tidak kasar. Daun memiliki panjang 4,5-11, 7 cm dan lebar 4, 2-8, 1 cm, berbentuk hati dan bulat memanjang, berwarna hijau dengan permukaan yang berbulu. Daun terdiri dari tangkai daun, berbentuk bulat telur dan berbunga, tulang daun berbentuk hati dan kadang berbulu, tepi daun adalah crenate, bergerigi dan berbulu (Arshad, 2014).

Bunga murbei mempunyai tipe berumah satu (monoecious). Memiliki bunga jantan dan bunga betina yang masing-masing tersusun dalam untaian yang terpisah satu sama lain. Buah murbei merupakan buah majemuk yang berwarna hijau pada saat muda dan berwarna hitam jika telah tua dan buahnya *syncarps* dan bulat telur. Murbei hitam memiliki berat buah terbesar dibanding spesies lainnya (Khalid dkk, 2011).

Murbei memiliki perakaran yang luas dan dalam. Tanaman yang berasal dari stek, umumnya tidak mempunyai akar tunggang, namun tampak memiliki akar yang tumbuh ke bawah yang mirip dengan akar tunggang. Perakaran murbei dapat berkembang pada kedalaman 300 cm. Tanaman murbei tahan terhadap pemangkasan, bila dipangkas dan dipelihara dengan baik akan tumbuh tunas-tunas baru (muda) dengan jumlah yang banyak berwarna hijau segar (Sunanto, 1997).

2.1.3 Fenologi dan Pembungaan

Murbei berbunga pada April hingga Mei dan buahnya matang pada juli hingga September (Koyuncu dkk, 2014). Murbei banyak ditemukan didaerah yang beriklim subtropis belahan utara hingga belahan selatan dan tumbuhan ini dapat tumbuh dalam berbagai kondisi iklim, topografi dan tanah (Ercisli dan Orhan, 2008).

2.1.4 Sebaran dan Tempat Tumbuh

Tanaman murbei tersebar luas di India, China, Jepang, Arab, Afrika Utara Eropa Selatan, Kamboja dan Indonesia (R dan Chauhan, 2008). Tanaman ini dapat tumbuh pada berbagai jenis tanah, sehingga keadaan tanah tetap perlu diperhatikan agar tanaman dapat tumbuh subur. Karakteristik sifat tanah tempat tumbuh tanaman murbei yaitu aerasi dan drainase tanahnya baik, solum minimal 50 cm, unsur hara tercukupi, tanah tidak asam (pH optimal 6,5) dan kelembaban udara cukup menunjang yaitu sekitar 65-85 persen (Syafrudin, 2000).

Marga morus tumbuh di daerah tropis pada 10° lintang selatan dan di daerah sub artik, 50° lintang utara, dan umumnya di daerah beriklim panas. Tanaman murbei dapat tumbuh secara luas dari daerah subtropis sampai daerah tropis pada suhu udara yang lebih tinggi. Tanaman murbei dapat tumbuh dengan baik pada daerah tropis yang mempunyai ketinggian antara 400 - 900 meter di atas permukaan laut dengan suhu berkisar 23°C - 28°C dan mendapatkan sinar matahari yang cukup (Departemen Kehutanan, 2003).

2.1.5 Manfaat dan Kegunaan

Tanaman murbei merupakan satu-satunya pakan bagi ulat sutera. Hasil dari budidaya ulat sutera berupa kokon dapat langsung dipasarkan atau dapat juga diolah menjadi benang sutera sebagai bahan untuk pembuatan kain sutera. Budidaya ulat sutera dapat memberikan hasil berupa kokon dalam waktu kurang lebih satu bulan. Budidaya ulat sutera merupakan usaha yang potensial, mengingat kebutuhan benang nasional belum dapat terpenuhi dari produksi dalam negeri. Harga kokon dan benang cukup membaik sehingga dapat menjadi motivasi bagi masyarakat untuk mengembangkan usaha tersebut (Nurhaedah, 2012). Selain itu, daun murbei adalah salah satu tanaman yang dijadikan minuman teh. Teh dari murbei, banyak mengandung zat-zat yang berguna bagi tubuh. Kandungan senyawa *polyhydroxylated* alkaloids, salah satunya yaitu *1-Deoxynojirimycin* berfungsi sebagai anti *diabetes militus* (Damayanti dkk, 2007).

2.2 Kultur Jaringan

2.2.1. Definisi Kultur Jaringan

Kultur jaringan tanaman adalah salah satu teknik menumbuhkan tanaman baik berupa sel, jaringan atau organ dalam kondisi aseptik secara *in vitro*. Teknik ini dicirikan oleh kondisi aseptik, penggunaan media secara buatan dengan kandungan nutrisi yang lengkap dan ZPT (zat pengatur tumbuh). Serta kondisi ruang kultur yang suhu dan pencahayaannya terkontrol (Yusnita, 2013). Kultur jaringan merupakan salah satu metode perbanyakan tanaman yang dapat menghasilkan tanaman baru dalam jumlah yang banyak dan waktu yang relatif singkat. Metode yang digunakan sebagai salah satu solusi untuk mempercepat hasil hibridasi murbei, sehingga transfer hasil-hasil pemuliaan ke pihak operasional tanaman di lapangan dipercepat (Handaryono dan Ari, 1994).

Teknik kultur jaringan merupakan salah satu alternatif untuk perbanyakan tanaman dengan hanya mengambil bagian akar atau bagian lainnya yang khusus (Miguel-Sierra dkk, 2017). Kultur jaringan adalah teknik mengisolasi bagian tanaman baik berupa organ, jaringan, sel atau protoplasma dan bagian tanaman tersebut disimpan pada media buatan dengan kondisi lingkungan yang steril dan terkendali sehingga bagian-bagian tersebut dapat beregenerasi hingga membentuk tanaman lengkap (Basri, 2004).

Teori yang mendasari teknik kultur jaringan adalah totipotensi dan plastisitas. Totipotensi merupakan kemampuan setiap sel tumbuhan untuk membentuk individu baru yang sempurna. Setiap sel akan beregenerasi menjadi tanaman yang lengkap apabila ditempatkan pada kondisi yang sesuai sedangkan plastisitas adalah kemampuan tanaman untuk menyesuaikan sistem pertumbuhan dan perkembangannya agar sesuai dengan lingkungan tempat tumbuh (Wattimena, 1998).

Keuntungan perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan adalah tidak membutuhkan ruangan yang luas, bebas penyakit, hama, virus karena perbanyakan dilakukan dalam keadaan aseptik, waktu untuk perbanyakan relatif singkat, tidak tergantung musim dan iklim dan menghemat tenaga (Yusinta, 2003). Disamping memiliki keuntungan, perbanyakan tanaman melalui kultur

jaringan memiliki kekurangan khususnya pada tanaman berkayu yaitu keluarnya senyawa-senyawa fenolik yang menyebabkan terjadinya browning (pencoklatan) pada eksplan yang menyebabkan eksplan tidak tumbuh. Pencegahan browning pada eksplan dapat dilakukan dengan memberikan perlakuan gelap (selama inkubasi tidak menggunakan cahaya) dan menambahkan vitamin C dalam medium (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

2.2.2. Tahapan Kegiatan Kultur Jaringan

Perbanyak tanaman dalam kultur jaringan dapat dilakukan dalam beberapa tahap antara lain sebagai berikut.

a) Inisiasi

Tahap inisiasi merupakan tahap awal pengambilan eksplan dari tanaman induk yang akan diperbanyak dan ditanam pada media kultur jaringan. Tahapan ini bertujuan untuk mendapatkan hasil biakan yang bebas kontaminasi sterilisasi eksplan sangat perlu diperhatikan seperti bagian yang diambil sebagai eksplan, umur fisiologis tanaman, dan ukuran eksplan (Yusnita, 2003). Komposisi media kultur sangat mempengaruhi keberhasilan tahapan ini. Media inisiasi mengandung ZPT sitokinin yang dikombinasikan dengan auksin dengan perbandingan konsentrasi tertentu. Kombinasi ZPT sitokinin dan auksin yang optimal pada media kultur berbeda-beda pada setiap jenis tanaman (Sulistiani dan Yani, 2012).

b) Multiplikasi

Multiplikasi merupakan proses penggandaan tanaman dimana tanaman tersebut dipotong-potong menjadi ukuran kecil kemudian ditanam pada media yang telah disediakan. Multiplikasi terdiri dari dua tahap yaitu diinduksi atau dirangsang untuk membentuk tunas tunas baru di media induksi tunas dan di subkultur ke medium elongasi tunas agar tunas-tunas tersebut mengalami pertumbuhan tinggi. Proses ini akan dilakukan secara berulang setiap waktu tertentu. Kemampuan multiplikasi akan meningkat apabila biakan disubkultur berulang kali (Sulistiyani dan Ahmad, 2012).

c) Pengakaran

Pengakaran adalah fase dimana eksplan adanya pertumbuhan akar yang menandai bahwa proses kultur jaringan yang dilakukan mulai berjalan dengan baik. Pengamatan dilakukan setiap hari untuk melihat pertumbuhan dan perkembangan akar serta untuk melihat adanya kontaminasi oleh bakteri atau jamur. Eksplan yang terkontaminasi akan menunjukkan gejala seperti berwarna putih yang disebabkan oleh jamur dan bakteri (Yuliarti, 2010).

d) Aklimatisasi

Aklimatisasi adalah proses penyesuaian planlet dari kondisi mikro dalam botol (heterotrof) ke kondisi lingkungan luar (autotrof). Metode aklimatisasi ini sangat penting pembedahan dilakukan secara bertahap, yaitu dengan memberikan sungkup. Sungkup digunakan untuk melindungi bibit dari udara luar dan serangan hama penyakit dari udara luar. Setelah bibit mampu beradaptasi dengan lingkungan barunya maka secara bertahap sungkup dilepaskan dan pemeliharaan bibit dilakukan dengan cara yang sama pemeliharaan generatif (Harianto, 2009). Menurut Sandra (2013), Media aklimatisasi yang akan digunakan secara umum memiliki beberapa syarat antara lain tidak menjadi sumber penyakit bagi tanaman, memiliki aerasi dan drainase yang baik. Contoh media yang digunakan dalam melakukan aklimatisasi adalah sekam bakar, cocopeat, serbuk pakis, dan moss.

2.3. Media Tumbuh

Media tumbuh merupakan salah satu faktor penting dalam kultur jaringan. Media tumbuh pada sistem kultur jaringan harus dapat memenuhi kebutuhan eksplan. Media kultur jaringan dapat berupa media padat dan cair. Media padat berupa padatan gel seperti agar, dimana nutrisi dicampurkan pada agar. Media cair adalah nutrisi yang dilarutkan ke dalam air. Keberhasilan dalam penggunaan media kultur jaringan sangat bergantung pada media yang digunakan. Media kultur jaringan membutuhkan persyaratan kandungan unsur-unsur hara berupa garam organik, bahan organik, vitamin dan zat pengatur tumbuh (Nursyamsi, 2010).

Media dasar yang sering digunakan dalam kultur jaringan adalah media MS (Murashige dan Skoog), karena memenuhi unsur hara makro, mikro, dan vitamin untuk pertumbuhan tanaman. Menurut Zulkarnain (2011), menambahkan bahwa media MS yang paling banyak digunakan, terutama pada mikropropagasi tanaman dikotil dengan hasil yang memuaskan. Hal itu dikarenakan medium MS memiliki kandungan garam-garam anorganik yang menyediakan unsur makro terdiri dari Nitrogen (N), Kalium (K), Belerang (S), Kalsium (Ca), Magnesium (Mg), dan Fosfor (P), sedangkan unsur mikro yang digunakan terdiri dari Molibdenum (Mo), Besi (Fe), Boron (B), Mangan (Mn), Seng (Zn), Kobalt (Co), dan Chlor (Cl), disamping kandungan nitratnya yang tinggi. Pada kultur jaringan arang aktif diketahui dapat mengurangi pencoklatan pada eksplan. Hal ini disebabkan sifat arang aktif dapat mengabsorpsi senyawa-senyawa yang dapat mengakibatkan pencoklatan seperti senyawa fenol (Gunawan, 1992).

2.4. Zat Pengatur Tumbuh (ZPT)

Zat pengatur tumbuh merupakan senyawa organik bukan nutrisi yang aktif dalam konsentrasi rendah, dan menimbulkan tanggap secara biokimia, fisiologis dan morfologis. Zat pengatur tumbuh yang sering digunakan dalam kultur jaringan adalah auksin, sitokinin, giberelin dan asam absisat (Gunawan, 1987). Auksin dan sitokinin merupakan zat pengatur tumbuh yang dibutuhkan dalam media kultur jaringan dan diberikan konsentrasi yang sesuai dengan pertumbuhan yang diinginkan. Auksin adalah salah satu hormon tumbuh yang tidak lepas dari proses pertumbuhan dan perkembangan suatu tanaman. Pengaruh auksin terhadap perkembangan sel menunjukkan bahwa auksin dapat menaikkan tekanan osmotik, meningkatkan sintesa protein, meningkatkan permeabilitas sel terhadap air, melunakkan dinding sel yang diikuti menurunnya dinding sel sehingga air dapat masuk ke dalam sel yang disertai dengan volume sel (Hendaryono dan Ari, 1994). Jenis auksin yang biasa digunakan untuk pembentukan kalus yaitu 2,4-D (*Dichlorophenoxyacetic Acid*) sedangkan untuk regenerasi salah satu jenis auksin yang sering digunakan adalah NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) karena NAA mempunyai sifat yang stabil dari IAA (Fitrianti, 2006).

Sitokinin merupakan kelompok hormon tumbuh yang penting sebagai pemacu pertumbuhan morfogenesis dalam kultur jaringan. Bentuk dasar dari sitokinin adalah *adenine* (6-amino purin). Adenin adalah bentuk dasar yang menentukan terhadap aktivitas sitokinin. Salah satu sitokinin sintetik yang mempunyai aktifitas tinggi dalam memacu pembelahan sel dalam kultur jaringan tanaman adalah 6-*Benzil Amino Purine* (BAP). BAP merupakan sitokinin yang paling banyak digunakan dalam kultur jaringan karena paling efektif untuk merangsang pembentukan tunas, lebih stabil, dan tahan terhadap oksidasi serta paling murah diantara sitokinin lainnya (Nurjanah, 2009).

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Juni sampai September 2019. Kegiatan penelitian dilakukan di Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Pohon, Fakultas Kehutanan, Universitas Hasanuddin, Makassar.

3.2. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), *autoclave*, oven, timbangan analitik, *microwave*, *hot plate* dan *magnetic stirrer*, lampu *Bunsen*, pH meter, *micropipet*, alat gelas standar (gelas piala, gelas ukur, cawan Petri, botol kultur dan batang pengaduk), alat diseksi (pinset, cutter, gagang dan pisau skalpel), rak kultur, korek api, *hand-sprayer*, *log book*, alat tulis-menulis dan alat dokumentasi.

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksplan pucuk murbei (*Morus nigra*) dari Balai Perhutanan Sosial dan Kemitraan Lingkungan Wilayah Sulawesi, Media dasar berupa media *Murashige* dan *Skoog*. Bahan lain yang digunakan aquades steril, NaOH 1 N, dan HCL 1 N, tween 80, Fungisida Masalgin 50WP, Bakterisida Agrept 20WP, Plant Preservative Mixtur (PPM), alkohol 70%, larutan pemutih komersil 20%, *sunlight*, spiritus. Bahan tambahan lain yaitu kertas saring, label, *plastic wrapping*, masker, sarung tangan dan *tissue*.

3.3 Pelaksanaan Kegiatan

Pelaksanaan kegiatan dalam penelitian ini terdiri atas beberapa tahap yang dimulai dari sterilisasi alat dan bahan, pembuatan media, persiapan dan sterilisasi sebelum penanaman, penanaman eksplan pada botol kultur yang berisi media dan pengamatan serta pengambilan data.

3.3.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang akan digunakan dalam kultur jaringan harus dalam keadaan bersih dan steril sehingga perlu dilakukan sterilisasi dengan beberapa langkah sebagai berikut.

- a. Cuci bersih dan keringkan alat-alat yang akan digunakan.

- b. Sterilkan alat dan bahan yang akan digunakan seperti botol kultur dan akuades menggunakan *autoclaf* pada suhu 121°C selama 20 menit sedangkan untuk media tanam pada suhu 121°C selama 15 menit.
- c. Sterilkan cawan Petri, pinset, gagang dan scalpel serta gunting dalam oven selama 1 hari yang sebelumnya telah dibungkus kertas.

3.3.2. Pembuatan Media Kultur

Pembuatan media kultur dilakukan setelah larutan stok tersedia. Media yang akan dibuat yaitu media MS

Langkah – langkah pembuatan media dasar MS adalah sebagai berikut:

- a) Siapkan gelas piala berukuran 1 liter yang berisi aquades steril sebanyak 1/3 dari volume gelas piala dan *magnetic stirrer* kemudian menempatkannya di atas *hot plate stirrer*.
- b) Timbang gula sebanyak 30 g menggunakan timbangan analitik, kemudian memasukkan ke dalam larutan media dalam gelas piala.
- c) Masukkan larutan stok makro, mikro, stok *Fe*, stok vitamin dan Myo-Inositol yang telah disiapkan dengan konsentrasinya masing-masing ke dalam gelas piala.
- d) Larutan media tersebut diaduk hingga homogen menggunakan *magnetic stirrer* diatas *hot plate stirrer*.
- e) Tambahkan aquades steril ke dalam labu ukur hingga volume mencapai 900 ml.
- f) Ukur pH larutan dengan menggunakan pH meter.
- g) Tambahkan NaOH secukupnya jika pH larutan kurang dari 5,6 dan Hcl secukupnya jika pH larutan lebih dari 5,8.
- h) Setelah pH larutan sesuai, selanjutnya ditimbang agar pematat sebanyak 8.000 mg L^{-1} , kemudian ditambahkan ZPT IAA, IBA dan kinetin berbagai konsentrasi kemudian aduk sampai merata.
- i) Tambahkan aquades steril hingga volume larutan menjadi 1000 ml.
- j) Didihkan larutan media dengan menggunakan *microwave*.
- k) Larutkan media di atas *hot plate stirrer* dan masukkan *magnetic stirrer* dalam gelas piala sehingga tidak ada agar yang tergumpal.

- l) Masukkan larutan media ke dalam botol-botol steril secara merata dan ditutup rapat menggunakan tutup botol.
- m) Labeli setiap botol yang sudah diisi media sesuai dengan perlakuan yang akan diberikan.
- n) Sterikan botol-botol yang berisi media menggunakan *autoclaf* pada tekanan 1 atm dengan suhu 121°C selama 15 menit.

3.3.3. Persiapan dan Sterilisasi Eksplan

Sumber eksplan yang digunakan adalah eksplan pucuk murbei dari tanaman yang sehat, tidak terinfeksi hama dan penyakit serta merupakan jaringan muda. Sterilisasi dilakukan melalui 2 tahap yaitu sterilisasi alat dan sterilisasi bahan sebagai berikut:

Sterilisasi Alat

Tahap sterilisasi alat dilakukan beberapa langkah sebagai berikut.

- a. Sterilkan LAFC dengan menyemprotkan alkohol 70%.
- b. Siapkan alat-alat yang akan digunakan seperti botol kultur berisi media tanam, lampu Bunsen, alat diseksi (pinset, gagang dan pisau skalpel, gunting) *tissue*, plastik *wrapping*, kertas saring, cawan Petri, tabung reaksi berisi alkohol 96% dan korek api kemudian dimasukkan dalam LAFC. Sebelum dimasukkan dalam LAFC alat-alat yang akan digunakan disemprot dengan alkohol 70%.
- c. Nyalakan LAFC dan UV (*sinar ultraviolet*) selama 60 menit.
- d. Matikan UV
- e. Nyalakan *lamp* dan *fan* pada LAFC kemudian masukkan bahan eksplan yang akan ditanam.
- f. Nyalakan lampu bunsen dengan korek api dan mensterilkan alat diseksi dengan memanaskannya pada lampu bunsen yang sebelumnya telah dicelupkan ke dalam alkohol 96%. Kemudian didiamkan beberapa saat sampai permukaannya dingin

Sterilisasi Bahan

Tahapan sterilisasi bahan tanaman dilakukan dengan beberapa langkah sebagai berikut:

- a. Potong eksplan diambil dari semai
- b. Memotong bagian pucuk murbei dengan ukuran ± 3 cm.
- c. Potongan pucuk tersebut disimpan ke wadah yang berisi aquades steril, untuk mengurangi fenolik.
- d. Sterilisasi bahan tanaman dilakukan melalui 2 tahap yaitu diluar LAFC dan di dalam LAFC
- e. Sterilisasi di luar LAFC meliputi :
 - a. Dipilih eksplan benih yang bagus dan tidak kering, kemudian disimpan dalam wadah yang berisi aquades steril.
 - b. Rendam eksplan pucuk ke dalam chloroxylenol yang ditambahkan detergen selama 30 menit kemudian bilas
 - c. Selanjutnya rendam eksplan pucuk dengan larutan fungisida, bakterisida dan antibiotik sesuai perlakuan selama 60 menit yang ditambah tween 80 1-2 tetes.
 - d. Bilas eksplan pucuk dengan menggunakan aquades steril sebanyak 3 kali.
 - e. Bilas eksplan dengan menggunakan aquades steril sebanyak 3 kali.
- f. Sterilisasi didalam LAFC meliputi :
 1. Rendam eksplan ke dalam alkohol 70% selama 1 menit
 2. Bilas eksplan dengan aquades steril sebanyak 3 kali.
 3. Rendam eksplan ke dalam sodium hypochlorit 15% selama 15 menit
 4. Bilas eksplan dengan aquades steril sebanyak 3 kali
 5. Rendam eksplan ke dalam sodium hypochlorite 10% selama 5 menit
 6. Bilas eksplan dengan aquades steril sebanyak 3 kali
 7. Potong setiap bagian ujung eksplan untuk ditanam
 8. Setelah kering, eksplan pucuk siap ditanam pada media sesuai dengan perlakuan.

3.3.4. Penanaman Eksplan

Penanaman dilakukan di dalam LAFC dengan beberapa langkah sebagai berikut.

- a) Masukkan bahan eksplan ke dalam cawan Petri yang berisi kertas saring dengan pinset dan memotong bagian daun tanaman dengan pisau scalpel.
- b) Eksplan pucuk ditanam dalam botol kultur yang didekatkan dengan bunsen menggunakan pinset.
- c) Tutup rapat botol kultur yang telah ditanami dan direkatkan dengan *plasticwrapping*.
- d) Labeli botol kultur yang telah ditanami dengan mencantumkan tanggal penanaman, nama media dan jenis perlakuan yang diberikan.

3.4. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) satu faktor yang terdiri atas 16 perlakuan. Kombinasi perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1 .

Total kombinasi media yang digunakan terdiri dari 16 kombinasi perlakuan. Setiap perlakuan diulang sebanyak 5 kali, sehingga total unit pengamatan sebanyak 80 unit pengamatan dengan penanaman pada setiap unit sebanyak 1 eksplan

Tabel 1. Kombinasi perlakuan pada media dasar MS Dengan menggunakan ZPT dengan berbagai konsentrasi yang digunakan dalam penelitian Mikropropagasi Murbei (*Morus nigra* Linn) melalui eksplan pucuk secara *in Vitro* pada berbagai media

Perlakuan	Media Dasar	Kinetin	IAA	IBA
M1	MS	0,5 Ppm	0,5 Ppm	
M2	MS	0,5 Ppm	1 Ppm	
M3	MS	1 Ppm	0,5 Ppm	
M4	MS	1 Ppm	1 Ppm	
M5	MS	1,5 Ppm	0,5 Ppm	
M6	MS	1,5 Ppm	1 Ppm	
M7	MS	2 Ppm	0,5 Ppm	
M8	MS	2 Ppm	1,5 Ppm	

M9	MS	0,5 Ppm		0,5 Ppm
M10	MS	0,5 Ppm		1 Ppm
M11	MS	1 Ppm		0,5 Ppm
M12	MS	1 Ppm		1 Ppm
M13	MS	1,5 Ppm		0,5 Ppm
M14	MS	1,5 Ppm		1 Ppm
M15	MS	2 Ppm		0,5 Ppm
M16	MS	2 Ppm		1 Ppm

Model matematis RAL yang digunakan adalah sebagai berikut (Sastrosupadi, 2000).

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \epsilon_{ij}$$

- Y_{ij} = Respon atau nilai pengamatan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j
 μ = Nilai tengah umum
 α_i = Pengaruh perlakuan ke-i
 ϵ_{ij} = Pengaruh galat percobaan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j
 i = Perlakuan (M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7, M8, M9, M10, M11, M12, M13, M14, M15 dan M16)
 j = Ulangan (1, 2, 3, 4, 5,)

3.5 Variabel Pengamatan

Pengamatan dilakukan setelah penanaman selama 90 hari. Variabel yang diamati meliputi:

- Jumlah eksplan bertunas, dihitung berdasarkan jumlah tunas yang muncul pada eksplan pucuk setiap dilakukan pengamatan.
- Jumlah daun yang muncul, dihitung berdasarkan jumlah daun yang terdapat pada setiap eksplan yang ditanam dan dihitung pada akhir pengamatan.
- Panjang daun, diukur berdasarkan panjang daun yang muncul pada setiap eksplan yang ditanam dan dilakukan pada akhir pengamatan.
- Persentase eksplan yang tumbuh (%), dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\frac{\Sigma \text{Eksplan tumbuh}}{\Sigma \text{Total eksplan yang ditanam}} \times 100\%$$

- Panjang akar, diukur berdasarkan panjang akar yang muncul pada setiap eksplan yang ditanam dan dilakukan pada akhir pengamatan.

7. Jumlah akar, dihitung berdasarkan jumlah akar yang muncul pada eksplan yang ditanam dan dilakukan pada akhir pengamatan.
8. Persentase eksplan yang terkontaminasi (%), dihitung per perlakuan dengan menggunakan rumus :

$$\frac{\Sigma \text{Eksplan terkontaminasi}}{\Sigma \text{Total eksplan yang ditanam}} \times 100\%$$

Data dianalisis menggunakan perangkat lunak R Statistics (R Development Core Team, 2013) dan Microsoft Excel (Microsoft Corporation). Data dalam bentuk jumlah (jumlah tunas dan jumlah daun) dianalisis menggunakan Regresi Poisson (Lampiran 2). Model Regresi Poisson merupakan *Generalized Linear Model* (GLM) yang data responnya diasumsikan berdistribusi poisson dengan model matematis sebagai berikut (Cameron dan Trivedi, 1998).

$$\hat{y}_i = \mu_i + \varepsilon_i = t_i \exp(x_i \beta) + \varepsilon_i$$

y_i = jumlah kejadian ke i , $i = 1, 2, \dots$,

μ_i = means jumlah kejadian dalam periode t_i

ε_i = galat error atau residual

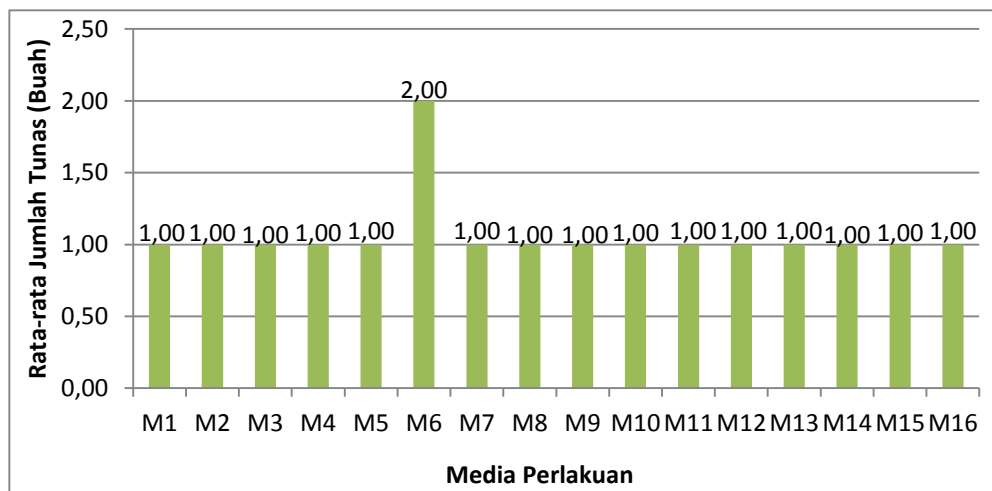
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Kondisi Umum

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa setiap kombinasi media perlakuan memberikan pengaruh dan tingkat konsentrasi yang berbeda-beda. Parameter pengamatan terdiri atas jumlah eksplan, jumlah daun, panjang daun, panjang akar, jumlah akar, persentase kontaminasi (%) dan persentase eksplan hidup (%). (Gunawan , 1998).

4.2 Jumlah Tunas

Penambahan ZPT dalam media merupakan salah satu faktor yang berpengaruh terhadap pertumbuhan eksplan terutama untuk menginduksi tunas dari eksplan. Hasil yang diperoleh (Gambar 1) bahwa M6 menunjukkan nilai rata-rata jumlah tunas tertinggi sebesar 2 buah dan M1, M2, M3, M4, M5, M7, M8, M9, M10, M11, M12, M13, M14, M15, M16 menunjukkan nilai rata-rata jumlah tunas terendah yaitu 1 buah.



Gambar 1. Rata-rata jumlah tunas Kultur Jaringan Murbei (*Morus nigra* Linn)

Wetherell (1982) menyatakan bahwa sitokinin merupakan senyawa yang dapat meningkatkan pembelahan sel pada jaringan tanaman serta mengatur pertumbuhan dan perkembangan tanaman, sama halnya dengan kinetin 1,5 ppm sitokinin berperan merangsang pertumbuhan sel dalam jaringan yang disebut eksplan dan merangsang pertumbuhan tunas daun. Jumlah eksplan bertunas dapat dilihat pada Gambar 1.

4.3 Jumlah Daun

Pengamatan jumlah daun dilakukan dengan menghitung jumlah helai daun yang terbentuk pada setiap perlakuan. Media perlakuan dengan konsentrasi yang beragam mempengaruhi pertambahan jumlah daun. Hasil analisis uji poisson pengaruh perlakuan media terhadap jumlah daun dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 2. Hasil Analisis Uji Poisson Pengaruh Perlakuan Media Terhadap Jumlah Daun Murbei

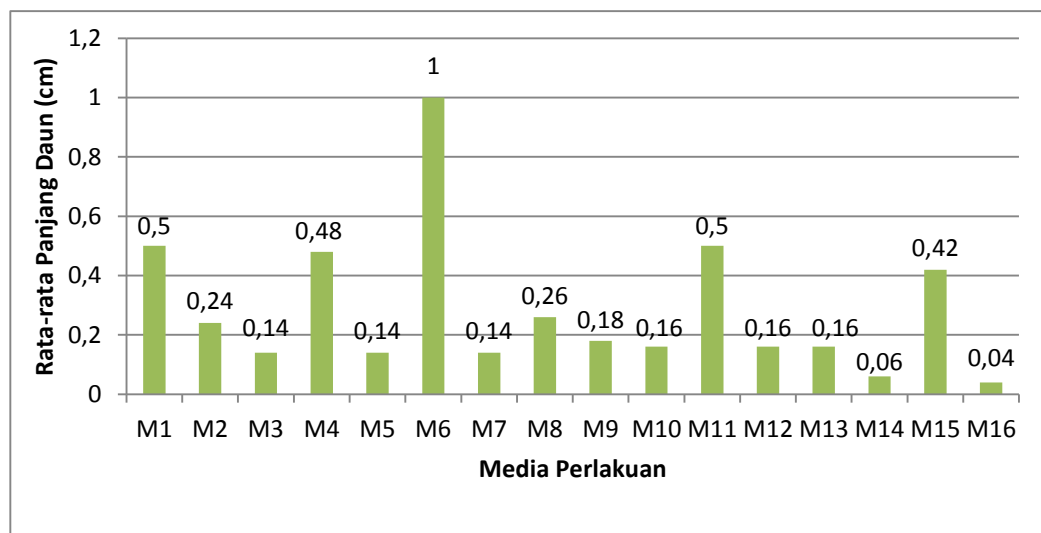
	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
PerlakuanM1	4.700e-01	3.536e-01	1.329	0.1837
perlakuanM10	3.287e-12	5.000e-01	0.000	1.0000
perlakuanM11	-1.335e-01	5.175e-01	-0.258	0.7964
perlakuanM12	-4.700e-01	5.701e-01	-0.824	0.4097
perlakuanM13	-1.386e+00	7.906e-01	-1.754	0.0795 .
perlakuanM14	-2.079e+00	1.061e+00	-1.961	0.0499 *
perlakuanM15	-2.877e-01	5.401e-01	-0.533	0.5943
perlakuanM16	-2.079e+00	1.061e+00	-1.961	0.0499 *
perlakuanM2	-1.335e-01	5.175e-01	-0.258	0.7964
perlakuanM3	-4.700e-01	5.701e-01	-0.824	0.4097
perlakuanM4	-2.877e-01	5.401e-01	-0.533	0.5943
perlakuanM5	-9.808e-01	6.770e-01	-1.449	0.1474
perlakuanM6	1.178e-01	4.859e-01	0.242	0.8085
perlakuanM7	-6.931e-01	6.124e-01	-1.132	0.2577
perlakuanM8	-6.931e-01	6.124e-01	-1.132	0.2577
perlakuanM9	-6.931e-01	6.124e-01	-1.132	0.2577

Keterangan : * (Nyata pada taraf kepercayaan 95%)

Hasil uji poisson (Tabel 2) menunjukkan bahwa perlakuan MS + Kinetin 1,5 + 1 IBA (M14) dan MS + Kinetin 2 + 1 IBA (M16) berpengaruh nyata disebabkan oleh perbandingan konsentrasi IBA dan Kinetin cenderung memperlihatkan stimulasi pertumbuhan daun. Wereing dan Philips (1970), menyatakan konsentrasi dari auksin dan sitokinin pada media kultur menunjukkan bahwa hormon-hormon tersebut memiliki peranan penting dalam pembentukan organ. Wetherel (1982) menyatakan secara umum dapat dikatakan bahwa perbandingan sitokinin-auksin yang tinggi baik untuk pembentukan daun sitokinin sangat berperan penting dalam pengaturan pembelahan sel dan morfogenesis.

4.4 Panjang Daun

Pengukuran pertambahan panjang daun hanya dilakukan sebanyak satu kali yaitu akhir pengamatan dikarenakan tidak memungkinkan jika pengambilan data berada dalam botol kultur. Hasil analisis data menunjukkan bahwa kombinasi media perlakuan tidak berpengaruh nyata terhadap panjang daun (Lampiran 2). Gambar 2 menunjukkan dari beberapa jenis media yang digunakan hanya M6 yang memiliki rata-rata panjang daun tertinggi dan panjang daun terendah pada perlakuan M3, M14 dan M16 cm. M6 merupakan media dengan konsentrasi zat pengatur tumbuh (ZPT) terbaik terhadap pertambahan panjang daun tertinggi sebesar 1 cm. Rohma (2007) menyatakan bahwa panjang daun memiliki hubungan dengan jumlah daun pada eksplan. Pertumbuhan daun yang baik menghasilkan rata-rata panjang daun terbesar.

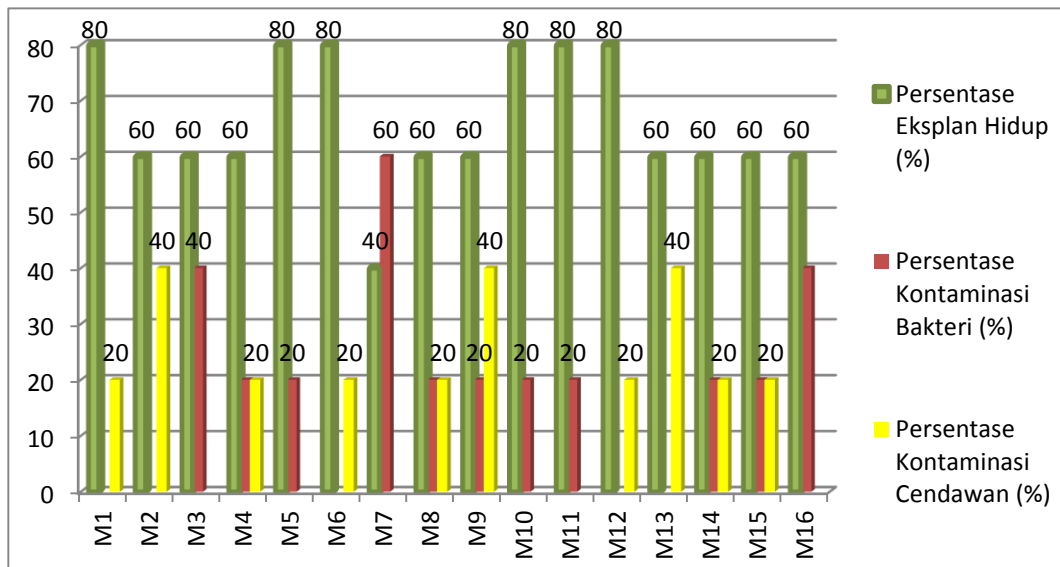


Gambar 2. Rata-rata panjang daun Kultur jaringan Murbei (*Morus nigra* Linn)

4.5 Persentase Eksplan Hidup dan Terkontaminasi

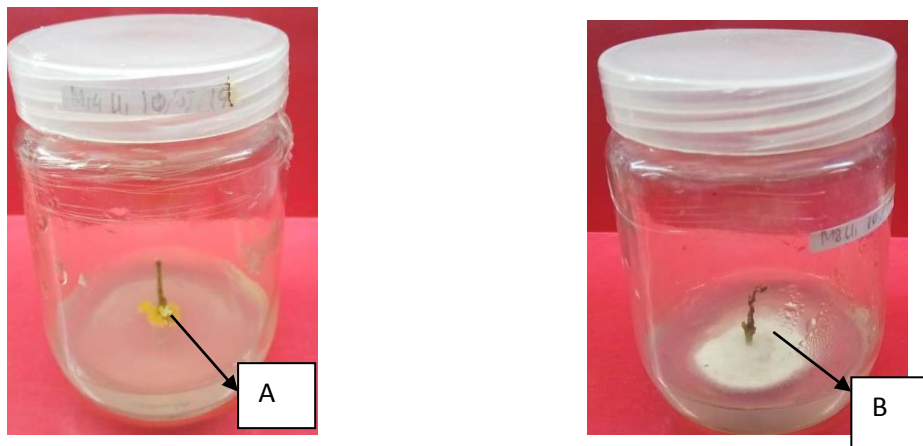
Persentase eksplan hidup mencapai 80% pada perlakuan M1, M5, M6, M10, M11, M12 eksplan yang hidup ditunjukkan dengan warna hijau segar. Persentasi kontaminasi tertinggi yang disebabkan oleh cendawan terdapat pada perlakuan M2, M9, M13 yaitu sebesar 40% dengan persentase eksplan hidup 60%. Persentasi kontaminasi tertinggi yang disebabkan oleh bakteri terdapat pada

perlakuan M7 yaitu sebesar 70% dengan persentasi hidup 40%. Jenis kontaminasi yang paling banyak muncul yaitu cendawan yang ditandai dengan adanya spora berbentuk kapas berrwarna putih pada eksplan sehingga menyebabkan eksplan mati. Beberapa faktor yang menyebabkan terjadinya kontaminasi pada eksplan diantaranya proses sterilisasi, peralatan yang digunakan tahapan kerja dan cara kerja. Persentase rata-rata eksplan yang hidup dan terkontaminasi dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Persentase eksplan tumbuh Kultur Jaringan Murbei (*Morus nigra* Linn)

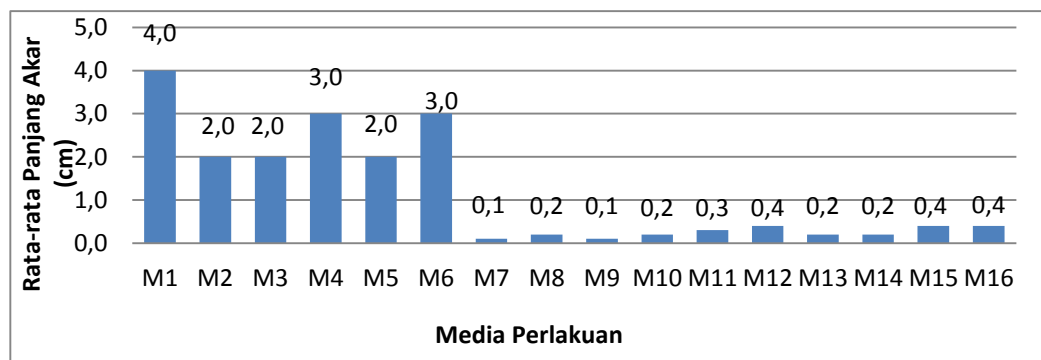
Munculnya kontaminasi merupakan masalah utama yang sering muncul pada kultur jaringan. Jenis kontaminasi dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Eksplan yang mengalami kontaminasi : A) Bakteri dan (B) Cendawan

4.6 Panjang Akar

Pengamatan terhadap panjang akar dilakukan pada akhir pengamatan dengan mengukur panjang akar pada setiap perlakuan. Hasil analisis data menunjukkan bahwa kombinasi media perlakuan tidak berpengaruh nyata terhadap panjang akar (Lmpiran 2). Gambar 5 menunjukkan perlakuan M1 dengan rata-rata panjang akar tertinggi sebesar 4,0 cm dan M7,M9 dengan rata rata panjang akar terendah 0,1 cm. Setiap perlakuan mampu menginduksi akar namun hasil pengukuran akar yang berbeda antar perlakuan. Hal ini dipengaruhi oleh perbedaan konsentrasi pada setiap media perlakuan. Terbentuknya akar disebabkan karena konsentrasi auksin (IAA) yang rendah sehingga eksplan mampu membentuk akar. Shutter (1996) dalam Lidyawati dkk (2012) menyatakan bahwa akar akan terbentuk pada konsentrasi auksin yang rendah.



Gambar 5. Rata-rata panjang akar Murbei (*Morus nigra* Linn)

4.7 Jumlah Akar

Perhitungan jumlah akar di ukur berdasarkan panjang akar yang muncul pada setiap eksplan. Hasil analisis data uji nyata (Tabel 3) menunjukkan bahwa perlakuan M1 (MS + Kin 0,5 + 0,5 IAA) berpengaruh sangat nyata, M3 (MS + Kin 1 + 0,5 IAA) berpengaruh nyata, M6 (Kin 1,5 + 1 IAA) berpengaruh sangat nyata terhadap jumlah akar. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian IAA dengan konsentrasi 1 ppm menghasilkan rata-rata jumlah akar terbanyak. Penelitian sebelumnya pada tanaman Inggu (*Ruta angustifolia*) dengan pemberian IAA 1mg/l menghasilkan akar terbanyak dibanding dengan perlakuan lain (Lestari, 2011).

Tabel 3. Uji Poisson Jumlah Akar Murbei *Morus nigra* Linn

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
perlakuanM1	0.7885	0.3015	2.615	0.00892 **
perlakuanM10	-20.0910	4215.7112	-0.005	0.99620
perlakuanM11	-20.0910	4215.7112	-0.005	0.99620
perlakuanM12	-20.0910	4215.7112	-0.005	0.99620
perlakuanM13	-20.0910	4215.7112	-0.005	0.99620
perlakuanM14	-20.0910	4215.7112	-0.005	0.99620
perlakuanM15	-20.0910	4215.7112	-0.005	0.99620
perlakuanM16	-20.0910	4215.7112	-0.005	0.99620
perlakuanM2	-0.6061	0.5075	-1.194	0.23236
perlakuanM3	-1.2993	0.6513	-1.995	0.04607 *
perlakuanM4	-0.7885	0.5394	-1.462	0.14379
perlakuanM5	-0.4520	0.4835	-0.935	0.34988
perlakuanM6	0.9343	0.3558	2.626	0.00865 **
perlakuanM7	-20.0910	4215.7112	-0.005	0.99620
perlakuanM8	-20.0910	4215.7112	-0.005	0.99620
perlakuanM9	-20.0910	4215.7112	-0.005	0.99620

Terbentuknya akar disebabkan karena konsentrasi auksin (IAA) yang diberikan yaitu 0,5 ppm dan 1 ppm tergolong rendah sehingga eksplan mampu membentuk akar. Shutter (1996) dalam Lidyawati dkk. (2012), menyatakan bahwa akar akan terbentuk pada konsentrasi auksin yang rendah dan pada konsentrasi auksin yang tinggi pembentukan akar akan terhambat. Berbeda dengan hasil penelitian Sulistiani dkk (2012), bahwa pemberian IAA 10 ppm menunjukkan pengaruh yang terbaik dalam menghasilkan akar. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian IAA dengan konsentrasi tinggi masih dapat meningkatkan pertumbuhan akar.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa media M6 (MS + Kinetin 1,5 + 1 IAA) merupakan media terbaik dalam kultur jaringan murbei terhadap munculnya jumlah tunas, panjang daun, jumlah akar dan persentase eksplan hidup 80%.

5.2 Saran

Setiap perlakuan memberikan respon yang baik terhadap pertumbuhan pucuk murbei. Sumber tanaman yang berasal dari induk murbei juga dibutuhkan tanaman yang bebas hama dan penyakit agar keberhasilan kultur jaringan murbei dapat ditingkatkan sehingga berguna bagi industri persuteraan alam.

DAFTAR PUSTAKA

- Arshad, M. A. 2014. Ethnobotanical and taxonomi screening of genus *Morus* for wild edible fruits used by the inhabitants of Lesser Himalayas Pakistan. *Journal of Medicinal Plants Research*, 8(25), pp. 889–898. doi:10.5897/JMPR2010.733.
- Attia O.A., Eldessoky S., Ehab E., and Hanan F. 2002. Micropropagation of mulberry (*Morus alba* L.). *International Journal of Biotechnology and Research*. 4: 15-22
- Balai Persuteraan Alam. 2007. Budidaya Tanaman Murbei (*Morus spp.*) Petunjuk Teknis. Direktorat Jenderal Rehabilitasi Lahan dan Perhutanan Sosial, Departemen Kehutanan. Jakarta.
- Basri, Z., 2004. Kultur Jaringan Tanaman. Universitas Tadulako Press, Palu.
- Cameron, A C dan Trivedi, P K. 1998. Regression Analysis of Count Data. Cambridge University Press: Cambridge
- Damayanthi E., Kusharto C.M., Suprahatini M., dan Rohdiana D. 2007. Diversifikasi Produk Teh Sebagai minuman Kesehatan. Jurnal ilmu-ilmu pertanian.
- Departemen Kehutanan. 2003. *Teknik Persemaian dan Informasi benih Murbei*. Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan. Yogyakarta.
- Ercisli, S. and Orhan, E. (2008) ‘Some physico-chemical characteristics of black mulberry (*Morus nigra* L.) genotypes from Northeast Anatolia region of Turkey, *Scientia Horticulturae*, 116(1), pp. 41–46 doi:10.1016/j.scienta.2007.10.021
- Evans, W.R.Sharp, P.V.Ammirato and Yamada.Y. (EDS). Hand Book of Plant Cell Culture Vol 1. *Technologies for propagation and Breeding*. Mac.Millan Publ. Co. N.Y. p. 177-227.
- Faradilla. 2017. Multiplikasi tanaman Murbei (*Morus sp*) dengan pemberian BAP pada kultur in *Vitro*. Jurnal Politeknik Negeri Samarinda.
- Fauzy,E., Mansyur, dan Husni. A. 2016. Pengaruh Penggunaan Media Murashige dan Skoog (Ms) Dan Vitamin Terhadap Tekstur, Warna Dan Berat Kalus Rumput Gajah (*Pennisetum Purpureum*) Cv. Hawaii Pasca Radiasi Sinar Gamma Pada Dosis Ld50 (*In Vitro*). Kelti Biologi Sel dan Jaringan BB Biogen Bogor
- Gunawan, L. W 1995. Teknik Kultur In Vitro dalam Hortikultura. Jakarta: PT. Penebar Swadaya

- Gunawan,L.W. 1987. Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan. Pusat Antar Universitas (PAU), Bioteknologi, IPB. Bogor.Hlm. 6-19.
- Gunawan, L.W. 1988. Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan. Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan PAU Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Gundogdu, M. (2011) ‘Determination of fruit chemical properties of *Morus nigra* L., *Morus alba* L. and *Morus rubra* L. by HPLC’, *Scientia Horticulturae*, 132(1), pp. 37–41.doi: 10.1016/j.scienta.2011.09.035.
- Gusmiaty, M. Restu, dan Faidah. 2011. Keberhasilan kultur pucuk murbei (*Morus cathayana*) melalui berbagai metode sterilisasi dan kombinasi zat pengatur tumbuh. Skripsi Mahasiswa Fakultas kehutanan. Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Harianto. 2009. *Teknik Kultur Jaringan*. Laboratorium Kultur Jaringan, PAU Bioteknologi, IPB Bogor.
- Hendaryono, D.P.S. dan Ari. W. 1994. Teknik Kultur Jaringan, Pengenalan dan Petunjuk Perbanyak Tanaman Secara Vegetatif Modern. Penerbit Kanisius.Yogyakarta.
- Hu, C.T and Wang. P.J. 1983. Meristem Shoot Tip and Bud Cultures.*In* D.A
- Heyne, K., (1987) : Tumbuhan Berguna Indonesia II, Badan Litbang Kehutanan, Jakarta, 659-660.
- Khalid, N., Fawad, S. A. and Ahmed, I.(2011) ‘Antimicrobial Activity, Phytochemical Profile and Trace Minerals of Black Mulberry (*Morus Nigra* L.) Fresh Juice’, *Pak. J. Bot*, 43(December), pp. 91–96.
- Koyuncu, F., Çetinbaş, M. and Ibrahim, E.(2014) ‘Nutritional Constituents of Wild-Grown Black Mulberry (*Morus nigra* L .)’, *Journal of Applied Botany and Food Quality*,87, pp. 93–96. doi:10.5073/JABFQ.2014.087.014.
- Lalitha N, Kiho S, Banerjee R, Chattopadhyay S, Saha AK, Bindroo BB. 2013. High-frequency multiple shoot induction and *in vitro* regeneration of mulberry (*Morus indica* L. cv. S-1635). *Intl J Adv Res* 1 (1): 22-26.
- Lestari. 2011. Peranan Zat Pengatur Tumbuh dalam Perbanyak Tanaman melalui Kultur Jaringan. *Jurnal Agribiogen*.7 (1), 63-67
- Lidyawati, NN, Muslimin dan Suwastika (2012) perbanyak tanaman melon (*cucumis melo*) secara *in vitro* pada medium MS dengan penambahan Indole acetic acid (IAA) dan Benzil Amino Pirin (BAP). *Jurnal Natural Science I*.

- Miguel-Sierra, Y., A. Hernández- Rodríguez, Y. Acebo-Guerrero, M Baucher dan El Jaziri.M. 2017. *In Vitro Micrografting of Apical and Axillary Buds of Cacao*. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology, Vol. 92(1): 25 – 30.
- Nisa, C., Rodinah, dan Annisa. 2011. Formulasi Zat Pengatur Tumbuh pada Pisang Talas secara In Vitro. *Agrosienteae* 8 (2): 64-69
- Nurhaedah. 2012. Kondisi budidaya murbei dan ulat sutera di daerah dataran rendah Kabupaten Soppeng. Prosiding Seminar Hasil-hasil Penelitian Balai Penelitian Kehutanan Makassar. Peran Iptek dalam Pembangunan Kehutanan dan Kesejahteraan masyarakat di Wilayah Wallacea.
- Nurjanah, E. 2009. Pengaruh Kombinasi NaCl dan ZPT IBA pada Media MS Terhadap Pertumbuhan Galur Mutan Padi Secara *In Vitro*. Skripsi. Prodi Biologi. Fakultas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Nursyamsi. 2010. Teknik kultur jaringan sebagai alternatif perbanyakan tanaman untuk mendukung rehabilitasi lahan. Balai Penelitian Kehutanan Makassar. Prosiding Ekspose. Hal 85-100.
- Rohmah, S.N. 2007. Penggunaan BAP dan 2,4-D dalam Kultur in vitro *Ilesiles (Amorphophallus muelleri Blume.)*.Skripsi Institut Pertanian Bogor,Bogor.
- Syamsijah. 1992. Pemilihan tanaman murbei (*morus sp*) yang sesuai dengan daerah sindang resmi Sukabumi, Jawa Barat. Buletin Penelitian Hutan. 547:45-59.
- Sandra, E. 2013.*Cara Mudah Memahami dan Menguasai Kultur Jaringan Skala Rumah Tangga*. IPB Press, Bogor (ID).
- Santoso B (2012) Murbei varietas N1 (Varietas Unggul). Jurnal Wallace. Balai Penelitian Kehutanan Makassar.
- Sastrosupadi, A. 2000. Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian.Buku. Kanisius. Malang. 267 P.
- Sulistiani,E. dan Ahmad. Y.S 2012. Produksi Bibit Tanaman dengan menggunakan Teknik Kultur Jaringan.Saameo biotrop (southeast Asian centre for tropical biology), Bogor.
- Sunanto, H. 1997. Budidaya Murbei dan Usaha Persuteraan Alam. Penerbit Kasinus,Yogyakarta.
- Syafruddin. 2000. Studi Fenologi Pembungaan dan Evaluasi Hasil Persilangan Beberapa Jenis Murbei (*Morus spp*).Skripsi S-1 Fakultas Kehutanan Institut Pertanian STIPER.Yogyakarta

- Umami, N. 2012. *Efficient Nursery Production and Multiple Shoot Clumps Formation from Shoot Tiller Derived Shoot Apices of Dwarf Napier Grass (Pennisetum purpureum Schumach)*. JWARAS 55 (2) : 121-127.
- Purmadewi, G.C. 2017. Pengaruh Waktu Pengakaran dan Media Aklimatisasi terhadap Keberhasilan Aklimatisasi Tembesu (*Fagraea Fragrans* (Roxb.)Miq.).Skripsi.Departemen Silvikultur Fakultas Kehutanan Institut Pertanian Bogor.
- Wareing, P. F. And Philips. I. D. J. 1970. The Control of Growth and Differentiation in Plants. Pergamon Press Ltd. England. 303 p. y 1(1): 61-65.
- Wattimena, G.A. 1998. Zat Pengatur Tumbuh Tanaman. Pusat Antar Universitas Bioteknologi Institut Pertanian Bogor, Bogor. 93 hal.
- Wetherell, D.F. 1982. Pengantar Propagasi Tanaman secara *In Vitro* (diterjemahkan dari : Introduction to *In Vitro* Propagation, penerjemah : Koensoemardiyah dan D. Gunawan). IKIP Semarang Press. Semarang. 110 hal.
- Wulandari YRE, Prasasty VD, Rio A, and Geniola C. 2016. Determination of 1-deoxynojirimycin and phytochemical profile from mulberry leaves cultivated in indonesia. Inter J of Biotechnol and Bioengineer. 10(12):1.
- Yuliarti, N. 2010. *Kultur Jaringan Tanaman Skala Rumah Tangga*.Yogyakarta: Lily Publisher Skripsi Mahasiswa Fakultas Kehutanan. Universitas Hasanuddin. Makassar
- Yusnita. 2003. Kultur Jaringan Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien. Agromedia Pustaka. Jakarta. 105 hlm.
- Zulkarnain, 2011. *Kultur Jaringan Tanaman*. Jakarta: Bumi Aksara.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Perbedaan komposisi larutan stok media kultur MS (Murashige dan Skoog 1962) dan MS Modifikasi.

Komponen	Komposisi Media (mg/l)	
	MS	MS Modifikasi
Makro		
NH ₄ NO ₃	1.650	30.000
KNO ₃	1.900	75.750
CaCl ₂ .2H ₂ O	440	11.000
MgSO ₄ .7H ₂ O	370	9.250
KH ₂ PO ₄	170	4.250
Mikro		
KI	0.83	40
H ₃ BO ₃	6.2	310
MnSO ₄ .4H ₂ O	22.3	845
ZnSO ₄ .H ₂ O	8.6	430
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.5	12,5
CUSO ₄ .5H ₂ O	0.025	1,25
COCL ₂ .6H ₂ O	0.025	1,25
Fe EDTA		
Na ₂ .EDTA	37.3	1.865
FeSO ₄ .7H ₂ O	27.8	1.390
Vitamin		
Myo-inositol	100	100
Nicotinic acid	0.5	250
Pyrodoxine HCL	0.5	250
Thiamine HCL	0.1	50
Glycine	2	1.000
Gula	30.000	30.000
Agar	7.000	7.000

Sumber komposisi media MS: Murashige dan Skoog (1962).
 Sumber komposisi MS modifikasi: Purmadewi (2017).

Lampiran 2. Tabel uji Krukas-Wallis Tinggi Tanaman, Panjang Daun dan Panjang Akar

Kruskal-Wallis rank sum test

data: meli\$pd by mel\$perlakuan

Kruskal-Wallis chi-squared = 13.927, df = 15, p-value = 0.5311

```
>kruskal.test(meli$pa~mel$perlakuan)
```

Kruskal-Wallis rank sum test

data: meli\$pa by mel\$perlakuan

Kruskal-Wallis chi-squared = 14.939, df = 15, p-value = 0.4558

Call:

```
glm(formula = jt ~ perlakuan, family = "poisson", data = meli)
```

Deviance Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-0.6515	0.0000	0.0000	0.0000	0.1464

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
(Intercept)	-1.171e-17	4.472e-01	0.000	1.000
perlakuanM10	1.923e-16	6.325e-01	0.000	1.000
perlakuanM11	3.006e-16	6.325e-01	0.000	1.000
perlakuanM12	-1.758e-16	6.325e-01	0.000	1.000
perlakuanM13	-4.459e-17	6.325e-01	0.000	1.000
perlakuanM14	-1.784e-17	6.325e-01	0.000	1.000
perlakuanM15	1.376e-16	6.325e-01	0.000	1.000
perlakuanM16	-1.482e-16	6.325e-01	0.000	1.000
perlakuanM2	1.363e-16	6.325e-01	0.000	1.000
perlakuanM3	1.427e-16	6.325e-01	0.000	1.000
perlakuanM4	-1.114e-16	6.325e-01	0.000	1.000
perlakuanM5	-2.150e-16	6.325e-01	0.000	1.000
perlakuanM6	5.878e-01	5.578e-01	1.054	0.292
perlakuanM7	-6.967e-17	6.325e-01	0.000	1.000
perlakuanM8	-6.904e-17	6.325e-01	0.000	1.000
perlakuanM9	-6.974e-17	6.325e-01	0.000	1.000

Lampiran 3. Dokumentasi kegiatan penelitian



Pengambilan eksplan dari Balai Perhutanan Sosial dan Kemitraan Lingkungan Wilayah Sulawesi



Pembuatan Media Kultur Jaringan



Sterilisasi Eksplan Pucuk



Penanaman Eksplan Pucuk



Hasil Pengamatan Tanaman



Hasil pengamatan Tanaman



Hasil pengamatan Tanaman