

**PENGARUH KONSENTRASI BAP DAN MEDIA
TUMBUH TERHADAP MULTIPLIKASI JATI
(*Tectona grandis* L.) SECARA *IN VITRO***



**OLEH :
M A W A R
H 411 99 030**



UNIVERSITAS HASANUDDIN	
Tgl. Terima	6-08-2004
Asal/Dari	Fakul MIPA
Banyaknya	(1satu) EXP
Harga	Sumbangan
No. Inventaris	04 08060100
No. Klas	23344

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2004**

HALAMAN PENGESAHAN

**PENGARUH KONSENTRASI BAP DAN MEDIA TUMBUH
TERHADAP MULTIPLIKASI JATI (*Tectona grandis* L.) SECARA
In Vitro**

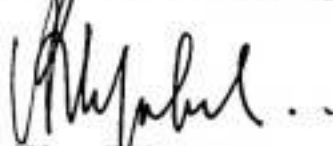
OLEH
MAWAR
H 411 99 030

DISETUJUI OLEH
PEMBIMBING UTAMA



Drs. Andi Ilham Latunra, MSi.
Nip. 131 963 837

PEMBIMBING PERTAMA



Dra. Risco Iy Gobel, MS

Nip. 130 785 082

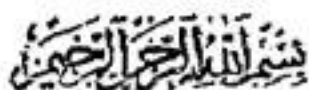
PEMBIMBING KEDUA



Ir. Nursyamsi

Nip . 710034543

KATA PENGANTAR



Puji dan syukur kami panjatkan kehadirat Allah SWT atas limpahan rahmat, hidayah serta karunia-Nya jualah sehingga kami dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "Pengaruh Konsentrasi BAP dan Jenis Media Tumbuh Terhadap Multiplikasi Jati (*Tectona grandis* L.) Secara In Vitro" sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana pada jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.

Dalam penyusunan skripsi ini kami banyak mendapat bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, melalui kesempatan yang berbahagia ini kami ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar - besarnya kepada Bapak Drs. Andi Ilham Latunra MSi, Ibu Dra. Risco B Gobel MS dan Ibu Ir. Nursyamsi selaku pembimbing yang telah memberikan bimbingan, arahan, serta saran selama kami melaksanakan penyusunan skripsi ini baik pada saat penelitian maupun penyusunan laporan.

Ucapan terima kasih dan penghargaan juga kami ucapkan kepada :

- ❖ Bapak Drs. Willem Moka, MS selaku penasehat akademik dan penguji atas segala kemurahan hatinya yang telah memberikan bimbingan selama ini.
- ❖ Ibu DR. Hj. Dirayah R Husain, DEA, selaku ketua jurusan Biologi, F.MIPA, UNHAS.

- ❖ Bapak Prof. DR. H. M. Noor Jalaluddin dan Bapak Drs. Alimin Bado,MS selaku Dekan dan Pembantu Dekan I F.MIPA, UNHAS
- ❖ Bapak Drs. Muh. Ruslan Umar, MSi, Ibu DR. Magdalena Litaay, MS, dan Ibu Dra. Elis Tambaru, MSi selaku penguji serta seluruh staf Dosen Jurusan Biologi yang telah memberikan kepada kami ilmu pengetahuan selama kami menuntut ilmu di Jurusan Biologi F.MIPA, UNHAS.
- ❖ Bapak Ir. Budi Santoso, MP atas bimbingan, dorongan dan semangat selama kami melaksanakan penyusunan skripsi ini.
- ❖ Ibu Retno, Pak Suharnawan, Mas Bin, Abd. Quds't, Edi, Ade, Immark, serta Seluruh Staf Laboratorium Silvikultur BP2KS atas bantuan dan canda tawa yang diberikan selama penelitian.
- ❖ Teman senasib dan seperjuanganku Isnadiyah dan A. Rismawati, terima kasih tak terhingga atas segala kebersamannya selama melaksanakan penelitian dan kepada seluruh rekan-rekan angkatan 99 Biologi, yang tak sempat saya sebutkan satu-satu.
- ❖ Teman-teman satu kostku , terima kasih untuk selalu mau mendengar semua keluhanku dan selalu memberikan dorongan dan bantuannya

Akhirnya ucapan terimah kasih dan penghargaan yang tiada terhingga kami haturkan kepada Ayahanda Andi Zainuddin dan Ibunda Andi Medang serta saudara – saudariku tercinta Kak Alam, Kak Enjong dan Kak Wana serta kakak iparku Kak Dul dan Kak Ibo tak lupa kepada ponakan-ponakanku A. Firdaus,

Ayatullah, Wahyu, dan Khairunnisa Atas kasih sayang, dan dukungannya selama ini baik itu dukungan material, moril, serta doa yang tulus dari awal sampai kami dapat menyelesaikan masa studi kami.

Akhirnya penulis mengucapkan terima kasih atas saran dan kritiknya, semoga laporan ini bermanfaat.

Makassar, Juni 2004

PENULIS

ABSTRAK



Penelitian ini mengenai Pengaruh Konsentrasi BAP (Benzil Amino Parin) dan Jenis Media Terhadap Multiplikasi Jati (*Tectona grandis* L.) Secara *In Vitro*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kombinasi konsentrasi BAP dan media pertumbuhan yang optimum untuk multiplikasi Jati (*Tectona grandis* L.) secara *In Vitro*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium kultur jaringan Balai Penelitian dan Pengembangan Kehutanan Sulawesi (BP2KS), Jl Perintis Kemerdekaan KM 16,5 Makassar pada bulan Februari – April 2004. Eksplan diperoleh dari tunas Jati (*Tectona grandis* L.) yang ditumbuhkan dalam media MS₀ (tanpa perlakuan zat pengatur tumbuh). Digunakan 6 perlakuan dari tiga konsentrasi BAP 3 ppm, 5 ppm, dan 7 ppm yang ditambahkan kedalam media MS (Murashige and Skoog) dan media WPM (Wood Plant Medium). Perlakuan disusun dengan menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL), dalam Analisis statistik Co Varian (Anova) dengan metode faktorial yang dilanjutkan dengan Uji Beda Jarak Berganda Duncan, dimana untuk setiap perlakuan dilakukan lima kali ulangan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan WPM + BAP 5 ppm merupakan kombinasi media dan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang optimum untuk multiplikasi Jati (*Tectona grandis* L.). Kombinasi media dan zat pengatur tumbuh yang tepat memacu pertumbuhan eksplan dalam kultur *In Vitro*.

Kata kunci : *Tectona grandis* L, BAP, MS, WPM, kultur *In Vitro*

ABSTRACT

The research on the effect of BAP (Benzil Amino Purin) and media type for multiplication of jati (*Tectona grandis* L.) have been conducted by using In Vitro method. The research aimed to know combination concentrate of BAP and the optimum growth media for multiplication of Jati (*Tectona grandis* L.) by using In Vitro method. This research was executed in Laboratory of Culture of Balai Penelitian dan Pengembangan Kehutanan Sulawesi (BP2KS), JL. Perintis Kemerdekaan KM 16,5, Makassar, from Pebruary – April 2004. Explan obtained from Jati's teak which is grown in MS₀ (Without regulator growth) media. This treatment compiled in Rancangan Acal Lengkap (RAL) by using Analysis statistic Co Variant (Anova) and use the factorial method, which it results is real then continued use the different test of Uji Jarak Berganda Duncan. Every treatment was conducted five times restarting.

The research was indicated that the WPM treatment and 5 ppm concentrate of BAP represent the optimum for the multiplication of Jati (*Tectona grandis* L.), combination of media and regulator growth can rise of explan in culture *In Vitro*.

Key Words : *Tectona grandis* L., BAP, MS, WPM, *In Vitro* Culture.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
ABSTRAK.....	vi
ABSTRACT.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
I.1 Latar Belakang.....	1
I.2 Maksud dan Tujuan Penelitian.....	4
I.2.1 Maksud Penelitian.....	4
I.2.2 Tujuan Penelitian.....	5
I.3 Waktu dan Tempat Penelitian.....	5
I.4 Manfaat Penelitian	5
I.5 Hipotesis	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
II.1 Kultur Jaringan Tanaman.....	6
II.2 Kultur Meristem	8

II.3 Media Kultur Jaringan Tanaman.....	8
II.4 Unsur – unsur Hara.....	11
II.5 Zat – zat Organik.....	11
II.6 Zat Pengatur Tumbuh	12
II.7 Faktor – faktor Yang Mempengaruhi Kultur Jaringan Tanaman.....	14
II.8 Aspek Biologi Tanaman Jati (<i>Tectona grandis</i> L.)	15
BAB III Alat, Bahan dan Cara Kerja.....	17
III.1 Alat.....	17
III.2 Bahan.....	18
III.3 Metode kerja.....	18
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	31
IV.1 Hasil.....	31
IV.2 Pembahasan.....	36
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	40
V.1 Kesimpulan.....	40
V.2 Saran.....	40
DAFTAR PUSTAKA.....	41
LAMPIRAN.....	42

DAFTAR TABEL

Tabel	Hal
1. Hasil Uji Jarak Berganda Duncan perlakuan terhadap rata-rata jumlah tunas yang terbentuk.....	34

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Hal
1. Grafik batang pengaruh konsentrasi BAP terhadap Waktu mulai Bertunas...	32
2. Grafik batang pengaruh konsetrasi BAP terhadap jumlah tunas	34
3. Grafik batang pengaruh konsentrasi BAP terhadap Tinggi Tunas.....	35
4. Tanaman Jati (<i>Tectona grandis</i> L.) Pada Media MS ₀ yang Merupakan Sumber Eksplan.....	50
5. Penampakan tanaman hasil kultur dalam Media MS pada Akhir Pengamatan (umur 8 minggu setelah tanam).....	51
6. Penampakan tanaman hasil kultur dalam Media WPM pada Akhir Pengamatan (umur 8 minggu setelah tanam).....	52

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Jati (*Tectona grandis* L.) merupakan tanaman tropika dan subtropika yang sejak abad ke-9 telah dikenal sebagai tanaman yang memiliki kualitas dan nilai jual tinggi karena penggunaannya banyak ditujukan sebagai bahan baku pembuatan meubel dan furnitur serta pembuatan berbagai kerajinan. Beragamnya penggunaan kayu jati menyebabkan tingginya permintaan akan bahan baku kayu jati tersebut. Besarnya permintaan dan tingginya harga jual kayu jati ternyata tidak diiringi dengan pasokan bahan baku yang memadai.

Tanaman jati merupakan spesies yang banyak tumbuh dan dikembangkan di Provinsi Sulawesi Selatan dan Sulawesi Tenggara, khususnya di Kabupaten Kendari Selatan dan Kabupaten Muna. Masyarakat luas mempercayai bahwa jati yang berasal dari Muna mempunyai kualitas dan corak yang lebih baik dibandingkan kayu jati asal Kendari selatan^(1,2).

Selain persoalan ekonomis, kelestarian dan konservasi dari tanaman jati itu sendiri yang mendorong untuk pengembangan dan pembudidayaan kayu jati agar kelestarian dan keseimbangan lingkungan dapat terjaga. Bahkan beberapa sumber menyebutkan bahwa sekarang ini terdapat kurang lebih 2 juta hektar lahan di daerah Muna yang kritis karena kayu jatinya telah habis ditebang dan tidak dibarengi dengan usaha reboisasi. Oleh karena itu untuk membantu pemerintah dalam mensukseskan

Gerakan Nasional Reboisasi Lahan Hutan (GNRLH), maka diadakan berbagai upaya untuk pengadaan bibit Jati dalam waktu yang relatif singkat dan dihasilkan jumlah bibit yang banyak.

Secara umum, perbanyakan Jati hingga dekade tahun 70-an masih bersifat konvensional dengan biji atau benih dari pohon induk yang memiliki sifat-sifat unggul. Perbanyakan tanaman jati secara konvensional (generatif) memiliki kendala teknis berupa kulit buah yang keras⁽³⁾.

Kelestarian tanaman jati yang berasal dari Kabupaten Muna tersebut dapat diperoleh melalui penyempurnaan teknologi budidaya khususnya teknologi propagasi secara vegetatif. Perbanyakan vegetatif memiliki kelebihan, diantaranya tanaman yang dihasilkan sama dengan induknya sehingga kualitas tanaman dapat dipertahankan dan pengadaannya tepat waktu. Sejalan dengan perkembangan ilmu dan teknologi budidaya tanaman, saat ini telah tersedia bibit tanaman jati hasil rekayasa teknis melalui kultur jaringan tanaman.

Kultur jaringan adalah suatu metode untuk mengisolasi bagian tanaman seperti protoplasma, sel, sekelompok sel, jaringan dan organ, serta menumbuhkannya dalam kondisi aseptik. Kultur jaringan didasarkan atas konsep totipotensi sel, yang dikemukakan oleh Haberlandt (1989)⁽⁵⁾. Ia berpendapat bahwa setiap sel mempunyai kemampuan untuk tumbuh dan berkembang secara terus menerus. Menurutnya bila sel-sel dipisahkan dan dikulturkan dalam suatu medium yang mendorong pertumbuhan dan perkembangan tanaman, maka sel-sel akan tumbuh secara tidak terbatas dan membentuk individu baru⁽²⁾.

Keberhasilan dalam teknik kultur jaringan tumbuhan sangat dipengaruhi oleh jenis media dan hormon yang digunakan. Zat pengatur tumbuh merupakan komponen media kultur *in vitro* yang sangat penting, namun jenis dan konsentrasinya tergantung pada jenis tanaman dan tujuan pengkulturan.

Dalam kultur jaringan, ada dua golongan zat pengatur tumbuh yang sangat penting yaitu sitokinin dan auksin. Zat pengatur tumbuh ini mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis sel, jaringan dan organ. Interaksi dan perimbangan antara zat pengatur tumbuh yang diberikan dalam media dan yang diproduksi oleh sel secara endogen menentukan arah perkembangan suatu kultur ⁽⁵⁾. Media MS merupakan media yang dapat digunakan untuk kultur jaringan tanaman untuk semua jenis tanaman, karena media ini mempunyai konsentrasi garam-garam mineral yang kompleks dan senyawa N dalam bentuk NO_3 dan NH_4 . Sedangkan media WPM merupakan media untuk tanaman berkayu. ^(5,9)

Menurut Nursyamsi dan Suhartati (2002)⁽³⁾ yang melakukan penelitian untuk mencari konsentrasi yang optimum untuk multiplikasi jati (*Tectona grandis* L.) yang ditanam dalam media MS didapatkan hasil bahwa semakin tinggi konsentrasi BAP (Benzil Amino Purin) yang ditambahkan ke dalam media waktu bertunas semakin cepat (media MS + BAP 3 ppm) dan semakin rendah konsentrasi BAP yang ditambahkan ke dalam media hasil yang didapatkan semakin tidak optimal. pada penelitian lain yang dilakukan oleh Suhartati (2000) dengan menggunakan tanaman kehutanan lain yaitu tanaman Bitti (*Vitex* sp) yang ditumbuhkan pada media MS didapatkan hasil bahwa pada penambahan zat pengatur tumbuh BAP konsentrasi 5,0

ppm, maka dapat mempercepat pembentukan tunas, memperbanyak jumlah tunas dan jumlah daun⁽⁹⁾.

Selain itu pada kultur tanaman melinjo (*Gnetum gnemon* L.) yang ditumbuhkan dalam media MS menunjukkan bahwa penggunaan 0,1 ppm NAA + 3 ppm BAP, dapat menghasilkan 4-5 tunas, sedangkan penggunaan konsentrasi 0,5 ppm NAA + 3 ppm BAP hanya membentuk 3-4 tunas. Penggunaan 0,1 ppm NAA + 5 ppm BA (Butirat Acid), justru menurunkan jumlah tunas yaitu hanya ada 2 tunas. dari hasil ini dapat dilihat semakin rendah penambahan auksin dalam media maka hasil yang didapatkan semakin baik⁽²¹⁾.

Beragamnya hasil yang didapatkan dari berbagai konsentrasi BAP yang digunakan serta untuk mencari jenis media apa yang digunakan untuk mendapatkan hasil multiplikasi yang banyak, maka perlu dilakukan penelitian mengenai kisaran konsentrasi penambahan BAP ke dalam media MS (Murashige and Skoog) dan media WPM (Wood Plant Medium) terhadap kemampuan multiplikasi kayu jati (*Tectona grandis* L.) secara in vitro.

I.2 Maksud dan Tujuan Penelitian

I.2.1 Maksud Penelitian

Penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi zat pengatur tumbuh BAP dan media tumbuh terhadap kemampuan multiplikasi tanaman jati (*Tectona grandis* L.).

I.2.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kombinasi konsentrasi BAP (benzil Amino Purin) dan media yang tepat untuk multiplikasi jati (*Tectona grandis L.*) secara *In Vitro*.

I.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Februari sampai April 2004, di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman, Balai Penelitian dan Pengembangan Kehutanan Sulawesi (BPPKS).

I.4 Manfaat Penelitian

Diharapkan dari hasil penelitian ini akan didapatkan informasi tentang konsentrasi BAP yang ditambahkan dalam media MS dan WPM, secara *in vitro* sehingga dapat diaplikasikan oleh seluruh masyarakat, instansi atau lembaga.

I.5 Hipotesis

Dari penelitian yang akan dilakukan diduga bahwa kombinasi konsentrasi BAP yang berbeda pada media pertumbuhan akan mempengaruhi multiplikasi Jati (*Tectona grandis L.*) secara *In Vito*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Kultur Jaringan Tanaman

Kultur jaringan tanaman merupakan suatu metode untuk mengisolasi bagian tanaman, seperti sel, sekelompok sel, jaringan, organ, protoplasma, serta menumbuhkannya dalam kondisi aseptik, sehingga bagian-bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman yang lengkap kembali ^(5,7,8).

Kultur jaringan tanaman didasarkan konsep totipotensi sel, yang menyatakan bahwa setiap sel tanaman yang diisolasi dari tanaman induknya mampu berkembang menjadi tanaman baru, jika ditumbuhkan pada media yang sesuai. Mekanisme kultur jaringan melalui pemisahan sebagian kecil organ tanaman yang dibiakkan pada media kultur yang mengandung nutrisi, baik mikro maupun makro dengan penambahan senyawa organik meliputi gula vitamin, zat pengatur tumbuh serta kondisi lingkungan yang sesuai (Bonga, 1982)^(2,9).

Kultur jaringan sudah diakui sebagai metode baru dalam perbanyakan tanaman. Tanaman yang pertama berhasil diperbanyak besar-besaran melalui kultur jaringan adalah anggrek, menyusul berbagai tanaman hias dan hortikultura lainnya, yang terakhir dikembangkan adalah perbanyakan tanaman kehutanan ⁽⁵⁾.

Perbanyakan mikro merupakan contoh aspek yang menarik dari penerapan kultur jaringan, terutama untuk beberapa jenis tanaman yang biasa diperbanyak secara vegetatif. Perbanyakan mikro secara umum dapat diartikan sebagai usaha



menumbuhkan bagian tanaman dalam media aseptik dan memperbanyaknya hingga menghasilkan tanaman sempurna⁽⁵⁾.

Berdasarkan bahan tanaman yang digunakan ada 3 jenis kultur jaringan yaitu^(4,10):

1. Kultur sel, bahan ini biasanya ditanam dalam bentuk suspensi dengan kepadatan yang telah ditentukan. Paling umum sel-sel ini diambil dari kalus, agar membentuk agregat kecil atau sel tunggal maka kalus dimasukkan dalam media cair.
2. Kultur protoplas, bahan ini juga biasanya ditanam dalam bentuk suspensi dengan kepadatan yang telah ditentukan. Mesofil daun, teras batang, kalus merupakan bagian tanaman yang umum dipakai sebagai sumber protoplas. Untuk mendapatkan suspensi protoplas harus digunakan medium yang mengandung enzim, proses pencucian yang menggunakan medium pencuci, sentrifugasi kemudian purifikasi.
3. Kultur organ, merupakan bahan yang paling umum digunakan dalam kegiatan kultur jaringan, bahan ini meliputi : daun, batang, akar, biji, tunas, embrio, anter, kepala sari dan lain-lain sebagainya.

Usaha mencari bahan eksplan untuk dibudidayakan secara kultur jaringan dapat dilakukan dengan berbagai macam cara. Eksplan dari tanaman berkayu biasanya diambil dari tanaman induk lapangan⁽⁶⁾.

Keberhasilan pembiakan vegetatif dengan kultur jaringan dipengaruhi oleh⁽⁷⁾.

1. Bagian organ tanaman yang dipergunakan

2. Cara sterilisasi
3. Komposisi dari media tumbuh yang dipakai
4. Keadaan lingkungan

II.2 Kultur Meristem

Kultur meristem adalah kultur jaringan tanaman yang menggunakan eksplan berupa jaringan-jaringan meristematis. Jaringan meristem yang digunakan dapat berupa meristem pucuk terminal atau meristem tunas aksilar. Dalam kultur meristem, perkembangan diarahkan untuk mendapatkan tanaman sempurna dari jaringan meristem tersebut dan bila dapat sekaligus memperbanyaknya^(5,12).

Kultur meristem mempunyai aspek praktis sebagai cara perbanyak klon yang cepat dan bebas penyakit. Pertumbuhan meristem pada umumnya memerlukan zat pengatur tumbuh dalam media. Jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh menentukan tahapan pertumbuhan dan tipe pertumbuhan suatu kultur. Auksin yang biasa digunakan dalam kultur meristem adalah IAA, NAA, dan IBA. Sitokinin merupakan bahan yang selalu ditambahkan, jenis sitokinin yang biasa dipakai adalah BAP, 2ip, atau kinetin. Dalam kultur meristem, sangat umum menggunakan konsentrasi sitokinin yang relatif lebih tinggi dari auksin^(5,10,12).

II.3 Media Kultur Jaringan Tanaman

Langkah awal dalam pelaksanaan kultur jaringan adalah persiapan media tanam yang mana sangat menentukan keberhasilan dari teknik kultur jaringan. Kedalam media tanam diberikan berbagai garam mineral, air gula, asam amino,

vitamin, zat pengatur tumbuh, pematid media untuk pertumbuhan dan perkembangan dan kadang-kadang arang aktif untuk mengurangi efek penghambatan dan persenyawaan polifenol (warna coklat hitam) yang keluar sebagai akibat pelukaan jaringan pada berbagai tanaman tertentu^(12,13,14).

Berdasarkan konsistensinya dalam kultur jaringan tanaman dikenal tiga jenis medium yang digunakan yaitu medium padat, semi padat dan cair. Pertumbuhan kultur dan laju pembentukan tunas dapat dipengaruhi oleh keadaan fisik dari media tersebut. Ada beberapa keuntungan penggunaan medium padat yaitu : Apabila menggunakan eksplan dengan ukuran yang kecil maka akan mudah terlihat, eksplan berada di atas permukaan medium sehingga tidak memerlukan alat bantu untuk aerasi, tunas dan akar tumbuh teratur dalam medium^(9,12).

Media cair berupa campuran komponen-komponen zat kimia dengan air suling, sedangkan media pada adalah media cair yang ditambahkan agar-agar (konsentrasi 8 g/l)⁽²⁾.

Jenis-jenis media yang dapat digunakan dalam kultur jaringan tanaman seperti⁽⁷⁾:

- CD medium (Campbel dan Durzan)
- MS (Murashige and Skoog)
- Anderson medium
- WS medium (Wolter dan Skoog)
- SH medium (Schenk dan Hilderbrandt)

- LP medium (Quoivin dan Lepovire)
- IS medium (Ide dan Saito)
- B5 medium (Gamborg, Miller dan Ojima)
- BTM (Broad Tree Leaves)
- WPM (Wood Plant Medium)

Banyak formulasi media yang ada, masing-masing berbeda dalam hal kuantitas maupun kualitas komponennya. Dari sekian banyak formulasi yang ada, beberapa buah diantaranya telah sering dipakai. Antara lain seperti yang telah dikemukakan oleh Toshio Murashige yang dipublikasikan oleh Murasige dan Skoog pada tahun 1962. Media MS (Murashige dan Skoog) dapat dikombinasikan dengan vitamin, myo inositol, thiamin, niasin dan pyridoksin^(9,10,15).

Media MS merupakan komponen dasar dari semua jenis media yang dapat digunakan pada kultur jaringan tanaman. Selain itu media MS dapat digunakan pada semua jenis tanaman, karena media ini mempunyai konsentrasi garam-garam mineral yang kompleks dan senyawa N dalam bentuk NO_3 dan $\text{NH}_4^{+(9)}$.

Media WPM (Wood Plant Medium) dikembangkan oleh Loyd dan Cown (1981), media ini merupakan media yang banyak digunakan untuk perbanyakan tanaman hias berbentuk perdu dan pohon. Media WPM merupakan media dengan konsentrasi ion yang rendah pada zaman setelah penemuan media MS. Media ini konsisten dengan media tanaman berkayu yang dikembangkan oleh ahli lain, tetapi sulfat yang digunakan berbeda untuk setiap tanaman berkayu lain⁽⁵⁾.

II.4 Unsur-Unsur Hara

Tanaman membutuhkan paling sedikit 16 unsur untuk proses pertumbuhannya yaitu unsur C, H dan O yang diambil dari udara, sedangkan unsur lainnya berupa pupuk yang dapat diberikan melalui akar maupun daun^(9,12).

Perbanyak tanaman dengan kultur jaringan sangat didukung oleh keberadaan unsur-unsur hara tersebut, unsur-unsur tersebut dapat diberikan melalui melalui akar yaitu dengan menambahkan pada media. Unsur yang dibutuhkan dalam jumlah besar yaitu unsur hara makro, dan unsur yang dibutuhkan dalam jumlah sedikit tetapi harus tersedia yaitu unsur hara mikro^(10,12).

Unsur hara tersebut harus diberikan dalam bentuk garam yang mudah larut. Konsentrasi optimum setiap unsur tersebut bervariasi untuk mencapai pertumbuhan tunas atau planlet. Unsur-unsur yang termasuk makro elemen yaitu: N, P, K, S, Ca, Mg dan unsur yang termasuk dalam unsur mikro adalah Cl, Mn, Fe, Cu, Zn, B dan Mo^(9,10,11).

II.5 Zat-Zat Organik

Zat-zat organik yang biasanya ditambahkan dalam media kultur jaringan adalah sukrose, mio inositol, vitamin, asam-asam amino dan zat pengatur tumbuh. Sebagai tambahan dapat diberi zat organik lain seperti air kelapa, ekstrak ragi, pisang, tauge, jeruk, kentang, apel, alpukat, pepaya, tomat dan lain-lain^(7,9).

Sucrose sering ditambahkan pada media kultur jaringan sebagai sumber energi yang diperlukan untuk induksi kalus. Penambahan sukrosa dengan konsentrasi 2-5 % merupakan sumber karbon ^(9,11).

Vitamin yang sering ditambahkan sebagai komponen penting dalam medium adalah pyridoksin, thiamin, asam nikotinat, asam folat, biotin, riboflavin, asam askorbat dan cholin. Vitamin ini umumnya terdapat dalam tanaman. Tiamin adalah vitamin yang esensial untuk media kultur jaringan, fungsi tiamin adalah untuk mempercepat pembelahan sel meristem akar, juga komponen sebagai koenzim dalam reaksi yang menghasilkan energi dan karbohidrat. Pemberian vitamin C (asam ascorbat) bertujuan untuk mencegah terjadinya pencoklatan pada permukaan irisan jaringan. Penambahan mio inositol pada medium bertujuan untuk membantu diferensiasi dan pertumbuhan sejumlah jaringan ^(10,12)

II.6 Zat pengatur Tumbuh

Zat pengatur tumbuh memegang peranan penting dalam pertumbuhan dan perkembangan kultur. Faktor yang perlu mendapat perhatian dalam penggunaan zat pengatur tumbuh antara lain jenis-jenis zat pengatur tumbuh yang digunakan, konsentrasi, urutan penggunaan dan periode masa inkubasi dalam kultur tertentu ^(10,16)

Ada dua jenis hormon tanaman yaitu auksin dan sitokinin yang sekarang banyak dipakai untuk kultur jaringan. Zat pengatur tumbuh ini mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis dalam kultur sel, jaringan dan organ. Penambahan

sitokinin dan auksin eksogen, mengubah level zat pengatur tumbuh endogen dalam sel ^(5,15,17).

Auksin digunakan secara luas dalam kultur jaringan untuk merangsang pembentukan kalus, suspensi sel dan organ. Auksin alamiah adalah IAA (Indole Acetic Acid), level auksin dalam eksplan tergantung dari bagian tanaman yang diambil dan jenis tanamannya, selain itu juga dipengaruhi oleh musim dan umur tanaman. Auksin sintetik yang sering digunakan dalam kultur jaringan tanaman adalah NAA (Naftalenat Acetic Acid), 2,4 Diklorofenoksi acetic acid (2,4- D), IBA (indole Butirat Acid) ^(15,18).

Sedangkan golongan sitokinin adalah turunan dari adenin dimana peranannya sangat penting dalam pengatur pembelahan sel dan morfogenesis. Sitokinin yang pertama ditemukan dan umum digunakan dalam kegiatan kultur jaringan tanaman adalah kinetin. Sitokinin lain yang sering digunakan dalam kultur jaringan tanaman adalah Benzil Amino Purin (BAP). Dalam kultur meristem adalah sangat umum menggunakan konsentrasi sitokinin yang relatif tinggi daripada auksin, sedangkan zat pengatur tumbuh yang digunakan adalah BAP, 2ip atau kinetin ^(15,18).

Auksin memberikan pengaruh interaksi terhadap diferensiasi jaringan. Pemberian auksin dengan kadar tinggi, maka diferensiasi kalus cenderung ke arah pembentukan primordia akar. Sedangkan dengan pemberian sitokinin dengan kadar yang relatif tinggi, diferensiasi kalus akan cenderung ke arah pembentukan primordia batang dan tunas ⁽¹⁴⁾.

Apabila dalam perbandingan konsentrasi sitokinin lebih besar dari auksin, maka hal ini akan memperlihatkan stimulasi pertumbuhan tunas dan daun. Sebaliknya apabila sitokinin lebih rendah dari auksin, maka akan menstimulasi pertumbuhan akar, demikian pula apabila perbandingan sitokinin dan auksin berimbang, maka pertumbuhan tunas, daun dan akar akan berimbang, dan apabila konsentrasi sitokinin itu intermediet (sedang) dan konsentrasi auksin itu rendah, maka keadaan pertumbuhan tersebut akan berbentuk kalus⁽²²⁾.

II.7 Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Kultur Jaringan Tanaman

Lingkungan tumbuh yang dapat mempengaruhi regenerasi tanaman antara lain adalah^(14,18):

- Temperatur

Temperatur memegang peranan penting, umumnya temperatur berkisar antara 25 – 28 °C. Penurunan temperatur ruang kultur yang lebih rendah sampai 4° C adalah untuk penyinaran dalam bentuk kultur pucuk.

- Penyinaran

Penyinaran kultur biasanya diberikan dengan menggunakan lampu TL (neon), Intensitas berkisar antara 600-1000 Lux. Intensitas yang tinggi dapat menghambat pembentukan pucuk dalam kalus. Panjang penyinaran dapat berlangsung 10-24 jam.

- Ukuran wadah kultur

Ukuran wadah yang digunakan mempengaruhi jumlah regenerasi yang terbentuk, terutama pada tipe regenerasi pucuk adventif dan pucuk aksilar.

II.8 Aspek Biologi Tanaman Jati (*Tectona grandis* L.)

Jati (*Tectona grandis* L.) pada mulanya merupakan tanaman hutan yang tidak sengaja ditanam dan tumbuh liar di dalam hutan bersama jenis tanaman lainnya, Namun seiring dengan penambahan kebutuhan manusia akan jenis kayu tersebut yang tidak seimbang lagi dengan persediaan. Belakangan ini Jati sudah menjadi tanaman yang dkebunkan. Jati merupakan tanaman asli di sebagian Jazirah India, Myanmar, Indo Cina, Sebagian Jawa, serta beberapa pulau kecil lainnya seperti Muna (Sulawesi Tenggara). Jati banyak tumbuh di tanah datar dan berbukit rendah dengan ketinggian 600 m di atas permukaan laut⁽²⁾.

Klasifikasi Tanaman Jati (*Tectona grandis* L.) adalah sebagai berikut⁽²⁰⁾ :

Regnum	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Sub divisio	: Angiospermae
Class	: Dicotyledoneae
SubClassis	: Sympetalae
Ordo	: Tubiflorae/ Solanales
Familia	: Verbenaceae
Genus	: <i>Tectona</i>
Species	: <i>Tectona grandis</i> L.

Secara morfologi tanaman jati memiliki diameter yang dapat mencapai 30-45 m. Diameter batang mencapai 2 m. Kulit kayu berwarna kehitaman atau abu-abu yang mudah terkelupas. Daun berbentuk elips (kadang-jadid) dengan ujung meruncing), berukuran panjang 20-30 cm dan lebar 12-15 cm. Permukaannya berbulu. Bunga jati bersifat majemuk yang terdapat dalam busur malai (Inflorescence) yang tumbuh terminal di ujung (^{1,2}).

Secara umum pertumbuhan jati di alam relatif kecil dan rendah demikian pula dengan tingkat pertumbuhannya. Beberapa laporan menyebutkan bahwa pada umur pohon antara 50 sampai 80 tahun kemudian tanaman jati tersebut dapat menghasilkan kayu yang berkualitas tinggi (^{2,26}).

Masa pembungaan berlangsung antara bulan Juni-Agustus atau September. Buah yang terbentuk masak sekitar bulan November. Buah yang jatuh akan menghasilkan regenerasi alami (^{1,20}).

BAB III

ALAT BAHAN DAN METODE KERJA

III.1 Alat

Adapun alat-alat yang dipergunakan dalam kultur jaringan tanaman yaitu :

- Lemari es
- Oven
- Timbangan analitik
- Hot plate dan magnetic stirrer
- Laminar air flow cabinet
- Rak kultur dengan lampu fluorocent
- AC (*Air Conditioner*)
- Otoklaf (*All American*)
- Cawan Petri (*Pyrex*)
- Pipet volume (*Brand*)
- Timbangan analitik
- pH meter
- Pinset, scalpel, gunting kecil
- Bunsen
- Handsprayer
- Botol kultur

- Gelas kimia (*Pyrex*)
- Erlenmeyer (*Pyrex*)

III.2 Bahan

Adapun bahan-bahan yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah :

- Alkohol 96 % dan 70 %
- Medium MS (Lampiran 1)
- Medium WPM (Lampiran 2)
- Sitokinin (BAP)
- Aquadest
- Formalin
- Larutan Sodium hypochlorix (klorox) 2,5 %
- Larutan NaOH 0,1 M
- Larutan HCl 0,1 M
- Biji jati asal Muna (*Tectona grandis L.*)
- Deterjen
- Tween 80
- Betadine

III.3 Metode Kerja

Dalam penelitian ini digunakan media Murashige and Skoog (MS) dan media Wood Plant Medium (WPM) yang ditambahkan zat pengatur tumbuh BAP. Untuk

membuat media pertumbuhan maka terlebih dahulu diawali dengan pembuatan larutan stok.

III.3.1 Pembuatan Stok Larutan

A. Pembuatan Larutan Stok Medium MS

Untuk memudahkan pekerjaan dalam pembuatan media maka terlebih dahulu diawali dengan pembuatan larutan stok dari komposisi media dasar MS. Larutan dikelompokkan dalam stok hara makro dan mikro (A,B dan C), stok vitamin (Myo-inositol, Thiamin HCl, Glisin dan Pyridoksin HCl, Nicotinic acid dan stok zat pengatur tumbuh.

a. Stok Hara Makro-Mikro

- Stok A

Stok A terdiri dari NH_4PO_4 , KNO_3 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 , H_3BO_3 , $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KI , Na_2MoO_4 , $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, dimana untuk membuat larutan stok A, maka terlebih dahulu menimbang zat-zat tersebut sebanyak :

- NH_4PO_4	: 33	gram
- KNO_3	: 38	gram
- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 7,4	gram
- KH_2PO_4	: 3,4	gram
- H_3BO_3	: 0,124	gram
- $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$: 0,446	gram

- $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 0,172 gram
- KI : 0,166 gram
- Na_2MoO_4 : 0,005 gram
- $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$: 0,0005 gram
- $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$: 0,0005 gram

Larutan stok dibuat dengan 20 kali konsentrasi akhir. Bahan-bahan tersebut dimasukkan satu persatu ke dalam erlenmeyer 1000 ml, yang berisi aquadest steril sebanyak 700 ml. Setiap kali memasukkan zat, langsung dihomogenisasi dengan cara dikocok. Setelah semua bahan larut, volume larutan stok dicukupkan sampai 1000 ml kemudian ditutup dengan alumunium foil, diberi label "A" dan simpan dalam lemari es.

- Stok B

Larutan stok ini terdiri dari bahan kimia CaCl_2 yang dibuat 20 kali konsentrasi akhir. Cara membuatnya CaCl_2 ditimbang sebanyak 8,9 gram dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 1000 ml yang berisi aquadest steril 700 ml, kemudian dilarutkan dengan cara dikocok. Setelah larut, volumenya dicukupkan sampai 1000 ml, kemudian ditutup dengan alumunium foil, diberi label "B" dan disimpan dalam lemari es.

- Stok C

Larutan stok ini terdiri dari bahan kimia Na_2EDTA dan FeSO_4 . Larutan stok dibuat dengan 20 kali konsentrasi akhir, Na_2EDTA ditimbang sebanyak 0,748 gram dan FeSO_4 sebanyak 0,556 gram. Kedua bahan tersebut dimasukkan dalam

erlenmeyer 1000 ml yang berisi aquadest 700 ml, kemudian dihomogenisasi dengan cara dikocok. Setelah larut, volumenya dicukupkan sampai 1 liter kemudian ditutup dengan aluminium foil dan diberi "C" dan disimpan dalam lemari es.

B. Stok Vitamin

- Stok D

Larutan stok terdiri dari unsur myo inositol dibuat dengan 20 kali konsentrasi akhir, unsur Myo-inositol ditimbang sebanyak 2 gram, kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer 1000 ml yang berisi aquadest sebanyak 700 ml dan dikocok hingga larut. Setelah larut, volumenya dicukupkan sampai 1000 ml kemudian ditutup dengan aluminium foil, diberi label "D" dan disimpan dalam lemari es.

- Stok E

Larutan stok E merupakan stok vitamin yang terdiri dari pyridoksin, thiamin, nicotinic acid, dan glysin. Stok ini dibuat dengan 40 kali konsentrasi akhir dimana setiap bahan ditimbang sebanyak :

- Pyridoksin : 0,2 gram
- Thiamine : 0,004 gram
- Nicotinic acid : 0,02 gram
- Glycine : 0,008 gram

Bahan-bahan kimia tersebut kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer 1000 ml yang berisi aquadest 700 ml, kemudian dihomogenisasi dengan cara dikocok. Setelah larut volumenya dicukupkan sampai 1000 ml, kemudian ditutup dengan aluminium foil, diberi label "E" dan disimpan dalam lemari es.



C. Stok Zat Pengatur Tumbuh

- Stok BAP

Stok BAP dibuat dengan dosis 1000 ppm sebanyak 100 ml. Zat BAP ditimbang sebanyak 100 mg dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 100 ml, kemudian dilarutkan dengan menambahkan HCl beberapa tetes dan dikocok sampai larut. Setelah larut ditambahkan aquadest steril sampai volumenya 100 ml, kemudian erlenmeyer ditutup seluruhnya dengan aluminium foil, diberi label dan disimpan dalam lemari es. Larutan stok ini apabila akan digunakan dengan konsentrasi 1 ppm maka diambil 1 ml larutan stok untuk 1 liter media.

B. Pembuatan Larutan Stok Medium WPM

a. Stok A

Stok ini terdiri dari unsur NH_4NO_3 , KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, H_3BO_3 , $\text{MnSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, KI. Larutan stok ini dibuat 20 kali konsentrasi akhir. Untuk membuat larutan stok ini terlebih dahulu menimbang unsur-unsur penyusunnya sebagai berikut :

- NH_4NO_3	sebanyak	8	gram
- KH_2PO_4	sebanyak	3,4	gram
- $\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	sebanyak	7,4	gram
- H_3BO_3	sebanyak	0,124	gram
- $\text{MnSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	sebanyak	0,446	gram
- $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	sebanyak	0,211	gram

- $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ sebanyak 0,005 gram
- $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ sebanyak 0,0005 gram
- KI sebanyak 0,0166 gram

Tiap-tiap unsur dicampur dalam erlenmeyer yang berisi aquadest sambil dikocok, kemudian volume dicukupkan hingga 1000 ml kemudian ditutup dengan aluminium foil dan diberi label "A" lalu disimpan dalam lemari es. Untuk membuat media WPM volume 1 liter maka larutan stok ini dipipet sebanyak 50 ml.

b. Larutan Stok B

Stok ini terdiri dari $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ dan $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, dan untuk pembuatan larutan stok ini masing-masing unsur ditimbang sebanyak :

- $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ sebanyak 11,52 gram
- $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ sebanyak 1,92 gram

Larutan stok ini dibuat 20 kali konsentrasi akhir. Setelah itu masing-masing unsur dilarutkan dalam erlenmeyer yang berisi aquadest sambil dikocok kemudian volume dicukupkan dengan menambahkan aquadest hingga 1000 ml kemudian ditutup dengan aluminium foil dan diberi label "B" lalu disimpan dalam lemari es. Untuk membuat media sebanyak 1 liter maka larutan stok ini dipipet sebanyak 50 ml.

c. Larutan Stok C

Stok ini merupakan stok vitamin yang terdiri dari nicotinic acid, pyridoksin, thiamin, dan gylsin. Larutan stok ini dibuat 40 kali konsentrasi akhir. Masing-masing unsur ditimbang sebanyak :

- Nicotinic acid sebanyak 0,02 gram

- | | | | |
|--------------|----------|------|------|
| - Pyridoxine | sebanyak | 0,02 | gram |
| - Thiamine | sebanyak | 0,04 | gram |
| - Glysine | sebanyak | 0,08 | gram |

Bahan-bahan tersebut dilarutkan dalam erlenmeyer yang berisi aquadest 1000 ml kemudian dihomogenisasi dengan cara dikocok setelah itu volume dicukupkan hingga 1000 ml, kemudian ditutup seluruhnya dengan aluminium foil untuk menghindari cahaya lalu diberi label Stok "C", kemudian ditempatkan di lemari es. Untuk membuat media volume 1 liter larutan stok ini dipipet sebanyak 25 ml.

d. Larutan Stok D

Stok ini terdiri dari unsur K_2SO_4 . Sebanyak 19,8 gram K_2SO_4 kemudian dilarutkan dalam erlenmeyer yang berisi aquadest sebanyak 1000 ml dengan cara dikocok kemudian erlenmeyer ditutup seluruhnya dengan aluminium foil kemudian dan diberi label "D" lalu disimpan dalam lemari es larutan stok ini dibuat 20 kali konsentrasi akhir.

e. Larutan Stok E

Stok ini terdiri dari unsure $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ dan Na_2EDTA Larutan stok ini dibuat 20 kali konsentrasi akhir. Masing-masing unsur ditimbang sebanyak :

- $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ sebanyak 0,556 gram
- Na_2EDTA sebanyak 0,746 gram

Semua bahan tersebut dicampur dengan menggunakan aquadest steril dalam erlenmeyer kemudian volumenya dicukupkan hingga 1000 ml lalu ditutup seluruhnya

dengan aluminium foil untuk menghindari cahaya kemudian kemudian diberi label stok "E" dan disimpan dalam lemari es. Untuk membuat media volume 1 liter larutan stok ini dipipet sebanyak 50 ml.

f. Pembuatan Stok F

Larutan stok ini dibuat 20 kali konsentrasi akhir. Stok ini berisi myo inositol 2 gram dilarutkan dalam aquadest dalam erlenmeyer volume 1000 ml kemudian dikocok lalu volumenya dicukupkan hingga 1000 ml, kemudian ditutup dengan aluminium foil dan diberi label Stok "F", kemudian ditempatkan di lemari es. Untuk membuat media volume 1 liter stok ini di pipet sebanyak 50 ml.

III.3.2 Pembuatan Media

A. Medium MS (Murashige and Skoog)

Untuk membuat media MS sebanyak 1 liter maka bahan-bahan yang dibutuhkan dan urutan pencampuran bahan sebagai berikut :

- * Stok A sebanyak 50 ml
- * Stok B sebanyak 50 ml
- * Stok C sebanyak 50 ml
- * Stok D sebanyak 25 ml
- * Stok E sebanyak 50 ml
- * Gula sebanyak 30 gram dilarutkan dalam aquadest lalu disaring ke campuran stok

- * Stok zat pengatur tumbuh disesuaikan dengan perlakuan dimana setiap 1 ml stok zat pengatur tumbuh sama dengan konsentrasi 1 mg/l atau 1 ppm.

Bahan-bahan tersebut dicampur dan ditambah aquadest hingga volume 1000 ml. Masing-masing perlakuan diukur pH-nya menjadi 5,5-5,8, dengan menambahkan NaOH atau HCl beberapa tetes. Setelah itu ditambahkan agar-agar sebanyak 8 gram perliter, kemudian larutan dimasak diatas hot plate yang dilengkapi magnetic stirrer sampai mendidih dan semua bahan larut. Larutan yang telah dimasak dimasukkan ke dalam botol kultur yang telah disterilkan. Kemudian ditutup rapat-rapat dengan menggunakan aluminium foil, lalu disterilkan pada otoklaf selama 15 menit pada temperatur 121° C dengan tekanan 1,5 kg/cm², perhitungan waktu dimulai pada saat tekanan yang diinginkan tercapai.

B. Media WPM (Wood Plant Medium)

Untuk membuat media WPM sebanyak 1 liter maka bahan-bahan yang dibutuhkan dan urutan pencampuran adalah sebagai berikut :

- * Stok A sebanyak 50 ml
- * Stok B sebanyak 50 ml
- * Stok C sebanyak 25 ml
- * Stok D sebanyak 50 ml
- * Stok E sebanyak 50 ml
- * Stok F sebanyak 50 ml

- * Gula sebanyak 30 gram dilarutkan dalam aquadest lalu disaring ke campuran stok
- * Stok zat pengatur tumbuh disesuaikan dengan perlakuan dimana setiap 1 ml stok zat pengatur tumbuh sama dengan konsentrasi 1 mg/l atau 1 ppm.

Bahan-bahan tersebut dicampur dan ditambah aquadest hingga volume 900 ml. Masing-masing perlakuan diukur pHnya menjadi 5,5 – 5,8 , dengan menambahkan NaOH atau HCl beberapa tetes. Setelah itu ditambahkan agar-agar sebanyak 8 gram perliter, kemudian larutan dimasak diatas hot plate yang dilengkapi magnetic stirrer sampai mendidih dan semua bahan larut. Larutan yang telah dimasak dimasukkan ke dalam botol kultur yang telah disterilkan. Kemudian ditutup rapat-rapat dengan menggunakan aluminium foil, lalu disterilkan pada otoklaf selama 15 menit pada temperatur 121° C dengan tekanan 1,5 kg/cm², perhitungan waktu dimulai pada saat tekanan yang diinginkan tercapai.

Pada pembuatan media zat pengatur tumbuh (BAP) ditambahkan sesuai dengan konsentrasi masing-masing perlakuan pada setiap medium MS dan WPM yaitu konsentrasi 3 ppm, 5 ppm dan 7 ppm. Setiap perlakuan dilakukan lima kali ulangan

Media (A)	Konsentrasi BAP (B)		
	3 ppm (B ₁)	5 ppm (B ₂)	7 ppm (B ₃)
MS (A ₁)	A ₁ B ₁	A ₁ B ₂	A ₁ B ₃
WPM (A ₂)	A ₂ B ₁	A ₂ B ₂	A ₂ B ₃

III.3.3 Sterilisasi Alat dan Wadah

Alat-alat seperti gunting, scalpel, pinset dicuci bersih dengan detergen kemudian dibilas dengan air kran lalu dikeringkan kemudian dibungkus dengan kertas kecuali botol kultur. Setelah itu disterilkan di dalam otoklaf dengan temperatur 121°C, tekanan 1,5 kg/cm² selama 1 jam, dengan perhitungan waktu setelah tekanan yang diinginkan tercapai. Alat-alat yang tidak langsung digunakan disimpan dalam oven dengan suhu 70° C. Laminar air flow sebelum dipergunakan disterilkan dengan menyemprotkan alkohol 70%, kemudian dibersihkan dengan kapas setelah itu lampu UV dinyalakan 1 jam sebelum digunakan.

III.3.4 Sterilisasi Sumber Eksplan

Biji buah jati dibelah dan diambil endospermnya, ditempatkan dalam wadah yang tertutup, setelah itu dilakukan sterilisasi dalam Laminar Air Flow Cabinet. Pertama biji disemprot dengan alkohol 70%, kemudian direndam dengan Chlorox 2,5% + Tween 80 selama 15 menit, setelah itu dibilas dengan air suling sebanyak tiga kali. Endosperm kemudian ditanam pada media MSo (tanpa perlakuan hormon). Selanjutnya ditempatkan pada rak kultur sebagai tempat inkubasi hingga tumbuhnya tunas.

III.4 Penanaman

III.4.1 Persiapan alat tanam

Menyiapkan alat-alat tanam seperti pinset, gunting kecil, cawan Petri, scalpel, erlenmeyer yang berisi aquadest steril, botol yang berisi alkohol dan aquadest lampu spiritus di dalam laminar air flow cabinet yang telah dinyalakan 1 jam sebelum penanaman dimulai (semua alat yang disiapkan adalah alat yang telah disterilisasi dalam otoklaf dan sebelum dimasukkan dalam laminar air flow terlebih dahulu disemprot dengan alkohol 70%).

III.4.2 Cara penanaman eksplan

Tunas setelah berumur kurang lebih 4 minggu, dicabut dengan pinset steril dan diletakkan dalam cawan Petri. Setiap mata tunasnya dipotong dan ditanam ke media perlakuan persatu mata tunas kecuali bagian pucuknya. Kemudian diberi label jenis tanaman, perlakuan dan tanggal penanaman. Botol media kemudian dipindahkan ke rak kultur yang diberi pencahayaan dengan intensitas 600 lux pada suhu 20° C.

III.5 Pengamatan

Pengamatan dilakukan terhadap parameter :

1. Waktu mulai bertunas diamati sejak hari penanaman
2. Jumlah tunas diamati pada akhir pengamatan (8 minggu setelah tanam)
3. Tinggi tanaman, diamati pada akhir pengamatan (8 minggu setelah tanam)

III.6 Analisis Statistika

Penelitian disusun berdasarkan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan metode faktorial dimana faktor pertama adalah media (MS dan WPM) sedangkan faktor kedua adalah zat pengantar tumbuh (BAP) yang terdiri dari 3 taraf konsentrasi yaitu 3 ppm, 5 ppm dan 7 ppm, setelah itu data dianalisis dengan menggunakan analisis sidik ragam (anova) apabila didapatkan hasil yang nyata (signifikan) maka dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan.

Keterangan : A₁B₁ = Media MS + BAP 3 ppm
A₁B₂ = Media MS + BAP 5 ppm
A₁B₃ = Media MS + BAP 7 ppm
A₂B₁ = Media WPM + BAP 3 ppm
A₂B₂ = Media WPM + BAP 5 ppm
A₂B₃ = Media WPM + BAP 7 ppm

Pada grafik batang di atas terlihat bahwa perlakuan A₁B₁ (media MS + BAP 3 ppm) menunjukkan rata-rata waktu pembentukan tunas tercepat (4,4 hari setelah tanam) kemudian diikuti oleh perlakuan A₁B₃ (media MS + BAP 7 ppm), A₂B₁ (media WPM + BAP 3 ppm), A₂B₂ (media WPM + BAP 5 ppm) dan perlakuan A₂B₃ (media WPM + BAP 7 ppm) menunjukkan waktu pembentukan tunas terlambat (6 hari setelah tanam) dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

B. Jumlah Tunas

Dari hasil pengamatan terhadap rata-rata jumlah tunas pada setiap perlakuan dari kultur jaringan tanaman Jati (*Tectona grandis* L.) dapat dilihat pada Lampiran IVa. Dari hasil analisis Sidik Ragam (Lampiran IVb) menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh sangat nyata terhadap jumlah tunas yang terbentuk 8 minggu setelah tanam, sedangkan interaksi jenis media dan tingkat konsentrasi hormon BAP yang ditambahkan ke dalam media berpengaruh nyata terhadap jumlah tunas yang terbentuk. Hasil Uji Jarak Berganda Duncan terhadap rata-rata jumlah tunas yang terbentuk terlihat seperti pada tabel 1 di samping.

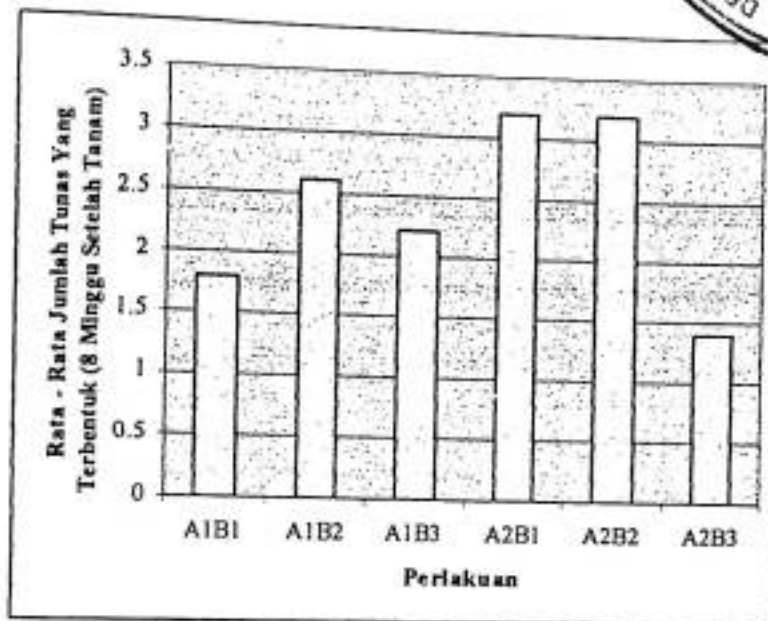
Tabel 1. Hasil Uji Jarak Berganda Duncan perlakuan terhadap rata-rata jumlah tunas yang terbentuk

Perlakuan	Rata-rata jumlah tunas yang terbentuk
A ₂ B ₃	1,4 a
A ₁ B ₁	1,8 a
A ₁ B ₂	2,2 ab
A ₁ B ₃	2,2 ab
A ₂ B ₁	3,2 b
A ₂ B ₂	3,2 b

Keterangan : Angka rata-rata yang ditandai dengan huruf yang sama berbeda tidak nyata pada taraf 5 % Uji Jarak Berganda Duncan

Pada tabel di atas terlihat bahwa rata-rata jumlah tunas yang terbentuk terbanyak pada perlakuan A₂B₂ (media WPM + BAP 5 ppm) yang berbeda nyata dengan perlakuan A₂B₃ (media WPM + BAP 7 ppm) dan A₁B₁ (media MS + BAP 3 ppm), tetapi berbeda tidak nyata dengan perlakuan A₂B₁ (media WPM + BAP 3 ppm) dan A₁B₃ (media MS + BAP 7 ppm). Sedangkan jumlah tunas yang paling sedikit terbentuk adalah pada perlakuan A₂B₃ (media WPM + BAP 7 ppm) yang tidak berbeda nyata dengan A₁B₁, A₁B₂ dan A₁B₃.

Hasil rata-rata jumlah tunas yang terbentuk (8 minggu setelah tanam), dapat dilihat pada diagram batang di bawah.



Gambar 2. Grafik batang Pengaruh Konsentrasi BAP terhadap Jumlah tunas yang terbentuk.

Keterangan : A1B1 = Media MS + BAP 3 ppm
A1B2 = Media MS + BAP 5 ppm
A1B3 = Media MS + BAP 7 ppm
A2B1 = Media WPM + BAP 3 ppm
A2B2 = Media WPM + BAP 5 ppm
A2B3 = Media WPM + BAP 7 ppm

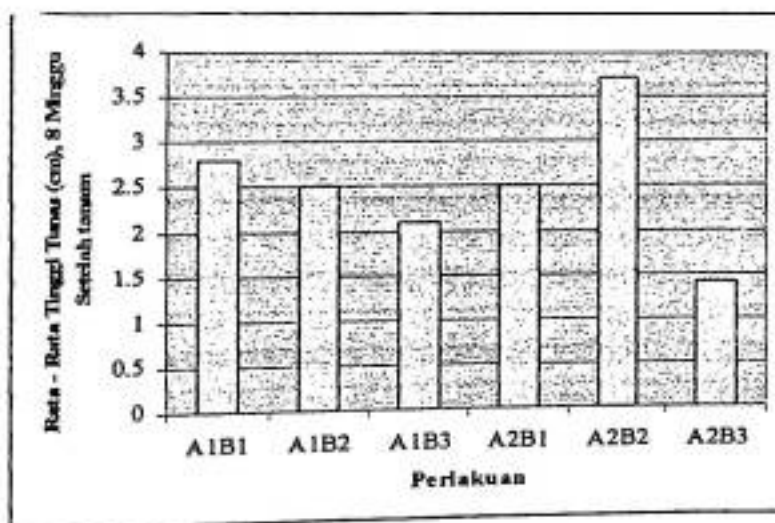
Dari grafik batang di atas dapat dilihat bahwa perlakuan A₂B₁ (media WPM + BAP 3 ppm) dan A₂B₂ (media WPM + BAP 5 ppm) menunjukkan rata-rata jumlah tunas terbanyak yaitu 3,2 (8 minggu setelah tanam) dibandingkan dengan perlakuan A₁B₁ (media MS + BAP 3 ppm), A₁B₂ (media MS + BAP 5 ppm), A₁B₃ (media MS + BAP 7 ppm) dan A₂B₃ (media WPM + BAP 7 ppm).

C. Tinggi Tunas

Hasil Pengamatan rata-rata tinggi tanaman (umur 8 minggu setelah tanam) pada setiap perlakuan dari kultur tanaman Jati (*Tectona grandis* L.) dapat dilihat pada Lampiran Va.

Hasil analisis sidik ragam (Lampiran Vb) menunjukkan bahwa jenis media dan konsentrasi BAP berpengaruh tidak nyata terhadap tinggi tunas, oleh sebab itu tidak dilanjutkan ke uji lanjutan.

Pengamatan terhadap tinggi tunas (umur 8 minggu setelah tanam) pada setiap perlakuan dapat dilihat pada grafik batang berikut :



Gambar 3 : Grafik batang pengaruh konsentrasi BAP terhadap rata-rata tinggi tunas.

Keterangan : A1B1 = Media MS + BAP 3 ppm

A1B2 = Media MS + BAP 5 ppm

A1B3 = Media MS + BAP 7 ppm

A2B1 = Media WPM + BAP 3 ppm

A2B2 = Media WPM + BAP 5 ppm

A2B3 = Media WPM + BAP 7 ppm

Pada grafik batang di atas terlihat bahwa perlakuan A_2B_2 menunjukkan rata-rata tinggi tanaman tertinggi 4,3 cm (8 minggu setelah tanam), kemudian diikuti oleh perlakuan A_1B_1 rata-rata tinggi tunas 2,8 cm (8 minggu setelah tanam), A_2B_1 rata-rata tinggi tunas 2,5 cm (8 minggu setelah tanam), A_1B_2 rata-rata tinggi tunas 2,5 cm (8 minggu setelah tanam), A_1B_3 rata-rata tinggi tunas 2,1 cm (8 minggu setelah tanam) dan perlakuan A_2B_3 menunjukkan tinggi tunas terendah 1,4 cm (umur 8 minggu setelah tanam) dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

IV.2 Pembahasan

A. Waktu Mulai Bertunas

Dari hasil pengamatan diketahui bahwa waktu pembentukan tunas (gambar 1) diperoleh bahwa perlakuan A_1B_1 (media MS + BAP 3 ppm) menunjukkan rata-rata waktu pembentukan tunas tercepat (4,4 hari setelah tanam) dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Sedangkan perlakuan A_2B_3 (media WPM + BAP 7 ppm) menunjukkan rata-rata waktu pembentukan tunas terlambat (5,2 hari setelah tanam) dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa perbedaan taraf konsentrasi BAP yang ditambahkan untuk media MS dan WPM tidak mempengaruhi kecepatan tumbuhnya tunas hal ini dapat dilihat dengan tumbuhnya tunas untuk setiap perlakuan meskipun waktu mulai bertunasnya berbeda-beda. Suhartati (2001) melaporkan bahwa planlet dari spesies Bitti (*Vitex sp.*) yang ditanam dalam media MS yang mengandung konsentrasi BAP 1,0 ppm + GA₃ 0,1 ppm, paling cepat bertunas yaitu pada hari ke-5. Sedangkan Nursyamsi dan Suhartati (2001) melaporkan bahwa konsentrasi BAP 4,0 ppm yang ditambahkan pada media MS

untuk kultur jaringan Jati (*Tectona grandis* L.) paling cepat bertunas yaitu pada hari ke-6. Dari data yang diperoleh menunjukkan hasil yang tidak jauh berbeda dengan penelitian sebelumnya yang menggunakan tanaman berkayu lainnya.

BAP dan sitokinin lainnya pada konsentrasi tertentu berperan dalam pembentukan tunas, penggunaan sitokinin dalam konsentrasi yang tinggi umumnya dapat menghambat pembentukan akar. Interaksi dan perimbangan antara zat pengatur tumbuh yang diberikan dalam media dan yang diproduksi oleh sel secara endogen menentukan arah perkembangan suatu kultur⁽⁶⁾. BAP merupakan salah satu golongan sitokinin yang berfungsi mempercepat pertumbuhan tunas dan pembelahan sel. Pembentukan dan perkembangan mata tunas sangat ditentukan oleh ketepatan konsentrasi sitokinin yang dapat memacu pertumbuhan tunas.

B. Jumlah Tunas

Hasil Analisis Sidik Ragam (Lampiran IVb), menunjukkan bahwa perlakuan kombinasi konsentrasi BAP yang diberikan ke dalam media MS dan WPM berpengaruh sangat nyata terhadap jumlah tunas yang terbentuk (umur 8 minggu setelah tanam) pada kultur jaringan tanaman jati (*Tectona grandis* L.). Hal ini disebabkan karena selama masa kultur terjadi keseimbangan antara hormon endogen yang dihasilkan tanaman dengan zat pengatur tumbuh yang ditambahkan pada kultur (eksogen).

Sedangkan untuk interaksi antara jenis media dan konsentrasi yang digunakan, berdasarkan Hasil Analisis Sidik Ragam (lampiran IVb) menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap jumlah tunas yang terbentuk (umur 8 minggu setelah

tanam) pada kultur tanaman jati (*Tectona grandis* L.), ini menunjukkan bahwa antara konsentrasi BAP dan media saling berinteraksi dan memberikan pengaruh yang nyata terhadap jumlah tunas yang terbentuk.

Adanya perbedaan konsentrasi zat pengatur tumbuh pada media akan mempengaruhi proses fisiologis yang terjadi selama masa kultur. Dalam konsentrasi tertentu hormon dapat mempengaruhi proses fisiologis tanaman, dalam hal ini dapat bersifat mendukung atau sebaliknya dapat menghambat pembentukan suatu organ. Bahkan suatu zat pengatur tumbuh dalam jumlah yang melewati batas optimum dapat bersifat racun atau menghambat bagi tanaman tersebut⁽²²⁾.

Media yang digunakan untuk tujuan pengkulturan menentukan keberhasilan kegiatan kultur yang dilakukan, untuk tanaman kehutanan media WPM merupakan media yang tepat digunakan, sedangkan media MS merupakan jenis media yang dapat digunakan pada semua jenis tanaman, hal ini terlihat dari hasil penelitian yang didapatkan bahwa untuk perlakuan A_2B_2 (media WPM + BAP 5 ppm) serta A_2B_1 (media WPM + BAP 3 ppm) memberikan hasil yang terbaik apabila dibandingkan dengan media MS.

C. Tinggi Tunas

Dari hasil pengamatan diketahui bahwa tinggi tunas (gambar 2) diperoleh bahwa perlakuan A_2B_2 (media WPM + BAP 5 ppm) menunjukkan rata-rata tinggi tunas tertinggi 4,3 cm (umur 8 minggu setelah tanam), dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Sedangkan tinggi tunas terendah 1,4 cm (umur 8 minggu setelah tanam) terdapat pada perlakuan A_2B_3 (media WPM + BAP 7 ppm), hal ini seiring

dengan teori bahwa pada konsentrasi yang tertentu sitokinin dapat menghambat pertumbuhan tunas suatu tanaman.

Menurut Nursyamsi dan Suhartati (2001), penggunaan zat pengatur tumbuh BAP 3 ppm memberikan hasil yang terbaik untuk kultur jaringan tanaman jati (*Tectona grandis* L.) menggunakan media MS, hal ini berbeda dengan hasil yang diperoleh yaitu penggunaan BAP 5 ppm pada media WPM menunjukkan tinggi tunas yang tertinggi. Hal ini juga membuktikan bahwa media WPM merupakan media yang tepat digunakan untuk multiplikasi Jati (*Tectona grandis* L.) secara in vitro.

Dari hasil penelitian dapat di lihat bahwa jumlah tunas yang terbentuk berbanding terbalik dengan tinggi tunas, hal ini disebabkan bahwa zat pengatur tumbuh yang dibutuhkan untuk penambahan tinggi tunas digunakan untuk pembentukan tunas, sehingga dari perlakuan yang menghasilkan jumlah tunas yang banyak maka otomatis tinggi tunasnya tidak maksimal.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kombinasi konsentrasi BAP (Benzyl Amino Purin) dan media tumbuh yang merangsang multiplikasi Jati (*Tectona grandis* L.) yaitu 5 ppm pada media WPM (Wood Plant Medium)

V.2 Saran

- Untuk multiplikasi Jati (*Tectona grandis* L.) secara in Vitro sebaiknya digunakan media WPM dengan penambahan zat pengatur tumbuh BAP 5 ppm.
- Agar penelitian ini dilanjutkan ketahap perakaran dan aklimatisasi dengan berbagai kombinasi zat pengatur tumbuh dan media.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sumarna Y, 2002, **Budidaya Jati**, Penebar Swadaya, Jakarta.
2. Nia A., 2002, **Mengebunkan Jati Unggul : Pilihan Investasi Prospektif**, Agro Media Pustaka, Jakarta.
3. Nursyamsi dan Suhartati, 2002, **Perbanyakan Jati (*Tectona grandis*) Secara in Vitro**. Balai Penelitian dan Pengembangan Kehutanan Sulawesi, Makassar.
4. Sarjoko, 1991, **Bioteknologi, Latar Belakang dan Beberapa Penerapannya**, PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
5. Gunawan L. W., **Tekhnik Kultur Jaringan Tumbuhan**, Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan Pusat Antar Universitas, Institut Pertanian Bogor.
6. George, E. F. and Paul D. S, 1984, **Plant Propagation by Tissue Culture, Hand Book & Directory of Comercial Laboratory**, Exegetic Ltd., Everslay, Basingtohe, Hants, England.
7. Herawan T dan Rina L. H, 1996, **Petunjuk Teknis Kegiatan Kultur Jaringan**, Badan Litbang Kehutanan, Balai Litbang Pemuliaan Benih Tanaman Hutan, Purwobinangun, Yogyakarta, Indonesia.
8. Hendrayono, Daisy P. S dan Ari W., 1994, **Tekhnik Kultur Jaringan; Pengenalan dan Petunjuk Perbanyakan Tanaman secara Vegetatif-Modern**, Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
9. Suhartati, 2002, **Perbanyakan Bitti (*Vitex sp*) secara in Vitro Pada Berbagai Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh**, Sistem-Sistem Pertanian, Program Pascasarjana, Universitas Hasanuddin, Makassar.
10. Santoso U dan Nursandi F., 2003, **Kultur Jaringan Tanaman**, Universitas Muhammadiyah Malang Press, Malang.
11. George E. F and Sherrington P. D., 1984, **Plant Propagation by Tissue Culture Handbook and Directory of Commercial Laboratories**, Exegetic Ltd, Eversley Basingstoke Hants. R 2627 OQY, England.

12. Thorpe A. Trevor, 1981, **Plant Tissue Culture, Methods and Applications in Agriculture**, Academic Press Inc, London.
13. Ammirato P. V, Evans, Sharp W.R, and Yamada Y., 1983, **Handbook of Plant Cell Culture Vol 3 Crop Species**, Macmillan Publishing Co. 866 Third Avenue, New York, NY 10022.
14. Gunawan I. W., 1995, **Tekhnik Kultur in Vitro, Dalam Holtikultura**, Penebar Swadaya, Jakarta.
15. Wetherell, D. F., 1982, **Pengantar Propagasi Tanaman Secara In Vitro**, Avery Publishing Group Inc, Wayne, New Jersey.
16. Rahardja, P. C., 1995, **Kultur Jaringan : Teknik Perbanyak Tanaman Secara Modern**, Penebar Swadaya, Jakarta.
17. Dwidjoseputro D., 1994, **Pengantar Fisiologi Tumbuhan**, PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
18. Vasil I. K., 1984, **Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plant**, Academic Press, INC. Orlando San Diego New York, London.
19. Tores C. K, 1984, **Tissue Culture Techniques for Horticultural Crops, An avi Book**, Published by Van Nostrand Reinhold, New York.
20. Tjitrosoepomo G., 1996, **Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta)**, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
21. Mariska, I., Deden S., dan Endang G. 1992. **Perbanyak Vegetatif Tanaman Melinjo Melalui Kultur Jaringan. Prosiding Bioteknologi untuk Menunjang Pembangunan Nasional**. Bogor.
22. Abidin, Z., 1983. **Dasar-dasar Pengetahuan tentang Zat Pengatur Tumbuh**, Penerbit Angkasa, Bandung