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 PENGESEHAN

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 StudiKehutanan

FakultasKehutanan

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. Mahammad Restu, MP.

NIP. 19650904 199203 1 003

Mengetahui,

Ketua Program StudiKehutanan FakultasKehutanan

Universitas Hasanuddin

Dr. Forest. Muhammad Alif K.S., S.Hut., M.Si

NIP. 19790831 200812 1 002

Optimization Software:
www.balesio.com

than:

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 efesien 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 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.
- 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.

k dan ibu Staf Balai Perhutanan Sosial dan Kemitraan Lingkungan yah Sulawesi yang telah memberikan eksplan selama penulis penelitian



- 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

HALAM	AN JUDULi
HALAM	AN PENGESAHANii
ABSTRA	AKiii
KATA P	ENGANTAR iv
DAFTAI	R ISIvi
DAFTAI	R GAMBAR viii
DAFTAI	R TABELix
DAFTAI	R LAMPIRANx
I PENDA	AHULUAN 1
	. Latar Belakang
II TINJA	AUAN PUSTAKA3
2.1	. Murbei (Morus nigra 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
3.1 3.2 3.3	DDOLOGI PENELITIAN
PDF	IL DAN PEMBAHASAN
otimization Software: www.balesio.com	

Halaman

4.4. Panjang Daun	21
4.5. Persentase Esksplan Hidup dan Terkontaminasi	
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-Ra	ata Jumlah Tunas	19
Gambar 2. Diagram Rata-Ra	ata Panjang Daun	21
Gambar 3. Persentase Ekspl	an hidup dan Terkontaminasi	22
Gambar 4. Media Perlakuan	yang Menunjukkan Kontaminasi	22
Gambar 5. Diagram Rata-Ra	nta Panjang Akar	23



DAFTAR TABEL

Tabel	Judul	Halaman
Tabel 1. Kombinasi Me	edia yang Digunakan	16
Tabel 2. Hasil Analisis	Uji Poisson Pengaruh Perlakuan Med	lia Terhadap
Jumlah Daun M	[urbei	20
Tabel 3 Hasil Analisis l	Uii Poisson Jumlah Akar Murbei	2.4



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Judul	Halaman
Lampiran 1	Larutan stok media Kultur MS (Murashige dan Sk	oog 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

k untuk memenuhi kebutuhan sel tanaman.

uksin dan sitokinin paling sering digunakan dalam kultur jaringan 2012). Sitokinin sangat berperan dalam mendorong pembelahan sel atau

jaringan yang digunakan sebagai eksplan dan merangsang perkembangan pucukpucuk 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) menunjukan 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



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 : Urticalis

Familia : Moraceae

Genus : Morus

Spesies : Morus nigra 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 lingkar 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

lalam berbagai kondisi iklim, topografi dan tanah (Ercisli dan Orhan,



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-*Deoxynojyrimycin* 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 (Miguelez-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 beregenarasi 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 kan dilakukan dalam keadaan aseptik, waktu untuk perbanyakan relatif tidak tergantung musim dan iklim dan menghemat tenaga (Yusinta, isamping memiliki keuntungan, perbanyakan tanaman melalui kultur

Optimization Software: www.balesio.com 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

Perbanyakan 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 ekspan 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

Kemampuan multiplikasi akan meningkat apabila biakan disubkultur 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 pemidahan 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

ringan membutuhkan persyaratan kandungan unsur-unsur hara berupa ganik, bahan organik, vitamin dan zat pengatur tumbuh (Nursyamsi,



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 (CI), disamping kandungan nitratnya yang tinggi. Pada kultur jaringan arang akif diketahui dapat mengabsobsi 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 menunjukan 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 2.4D (Dichlorophenoxyacetic Acid) sedangkan untuk regenerasi salah satu jenis auksin

ng digunakan adalah NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) karena NAA yai 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).

