

## DAFTAR ISI

<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>iv</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>v</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>vi</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Hipotesis .....	4
1.3 Tujuan dan Kegunaan .....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>5</b>
2.1 Tanaman Porang .....	5
2.2 Kultur <i>In Vitro</i> .....	7
2.3 Zat Pengatur Tumbuh .....	8
2.4 2,4-D dan BAP .....	9
<b>BAB III METODOLOGI</b> .....	<b>11</b>
3.1 Tempat dan Waktu .....	11
3.2 Alat dan Bahan .....	11
3.3 Metode Penelitian .....	11
3.4 Sumber Eksplan .....	12
3.5 Pelaksanaan Penelitian .....	12
3.6 Analisis Data .....	15
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	<b>16</b>
4.1 Hasil .....	16
4.2 Pembahasan .....	22
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	<b>28</b>
5.1 Kesimpulan .....	28
5.2 Saran .....	28
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	<b>29</b>
<b>LAMPIRAN</b> .....	<b>32</b>

## DAFTAR TABEL

No.	Teks	Halaman
1.	Kombinasi Perlakuan Hormon 2.4 D dan BAP .....	12
2.	Rata-rata waktu muncul kalus (HSK) pada berbagai konsentrasi 2,4 D dan BAP.....	16
3.	Rata-rata persentase terbentuk kalus (%) pada berbagai konsentrasi 2,4 D dan BAP.....	17
4.	Warna kalus pada berbagai konsentrasi 2.4 D dan BAP .....	18
5.	Tekstur kalus pada berbagai konsentrasi 2.4 D dan BAP.....	20
6.	Rata-rata berat kalus (g) pada berbagai konsentrasi 2,4 D dan BAP.....	21

## Lampiran

1a.	Rata-Rata Waktu Muncul Kalus (HSK) pada berbagai konsentrasi 2,4 D dan BAP.....	34
1b.	Rata-Rata Waktu Muncul Kalus (HSK) pada berbagai konsentrasi 2,4 D dan BAP (Data Transformasi).....	34
1c.	Sidik Ragam Rata-Rata Waktu Muncul Kalus pada berbagai konsentrasi 2,4 D dan BAP .....	35
2a.	Rata-rata Persentase Terbentuk Kalus (%) pada berbagai konsentrasi 2,4 D dan BAP.....	35
2b.	Sidik Ragam Rata-rata Persentase Kalus pada berbagai konsentrasi 2,4 D dan BAP.....	36
3a.	Rata-rata Berat Kalus (g) pada berbagai konsentrasi 2,4 D dan BAP.....	36
3b.	Sidik Ragam Rata-rata Berat Kalus pada konsentrasi 2,4 D dan BAP.....	37

## DAFTAR GAMBAR

No.	Teks	Halaman
1.	Tekstur Kalus pada berbagai konsentrasi 2,4 D dan BAP .....	20

### Lampiran

1.	Layout Unit Percobaan.....	33
2.	Desain Rancangan Percobaan (RAL).....	33
3a.	Proses Pencucian Alat .....	38
3b.	Proses Sterilisasi.....	38
3c.	Pembuatan Media .....	38
4a.	Penanaman di LAF.....	39
4b.	Proses Wrapping .....	39
4c.	Menyimpan Media di Inkubasi.....	39
5.	Kalus Porang .....	41

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Porang (*Amorphophallus muelleri* Blume) atau seringkali disebut dengan iles-iles, merupakan salah satu kekayaan hayati umbi-umbian Indonesia. Sebagai tanaman penghasil karbohidrat, lemak, protein, mineral, vitamin, dan serat pangan, tanaman porang sudah lama dimanfaatkan sebagai bahan pangan dan diekspor sebagai bahan baku industri. Meskipun demikian tanaman tersebut belum secara luas dibudidayakan. Petani umumnya hanya mengambil serta memanfaatkan tanaman yang tumbuh liar di hutan, di tegalan di bawah rumpun bambu, di sepanjang bantaran sungai dan lereng-lereng gunung (Saleh, 2015).

Pada beberapa tahun terakhir tanaman porang menjadi populer karena di dalam tanaman porang, terkandung karbohidrat glukomanan (nutrisi karbohidrat rantai panjang) dimana senyawa glukomanan ini dinilai dapat menjadi sumber bahan pangan yang sehat sehingga diyakini sangat mungkin memenuhi kebutuhan pangan dengan bahan yang relatif sedikit, dan mempunyai nilai ekonomi yang tinggi. Tanaman porang ini biasa diekspor dalam bentuk *chips* atau tepung. Pada tahun 2009 kebutuhan *chips* porang mencapai 3.400 ton *chips*. Saat ini tanaman porang sedang banyak diminati oleh petani karena tingginya jumlah permintaan. Sayangnya, tingginya minat masyarakat untuk budidaya porang tidak didukung dengan persediaan benih porang yang mencukupi. Akibatnya, harga benih tanaman porang menjadi cukup mahal. Kondisi tersebut menyebabkan benih porang menjadi sangat langka (Wijanarko, 2009).

Kelangkaan dan mahalnnya harga benih porang menjadi alasan untuk melakukan budidaya tanaman porang bagi petani. Petani menggunakan benih alami dari umbi, daun dan katak/bulbil yang harganya mencapai Rp.150.000 - Rp.400.000 per kilogram dan kebutuhan benih untuk satu hektar sekitar 200 kg sehingga petani harus mengeluarkan biaya Rp. 30.000.000 - Rp. 80.000.000 juta.

Berdasarkan permasalahan dalam produksi tanaman porang, maka salah satu cara untuk mengatasi kelangkaan benih porang dan menjamin ketersediaan bibit porang adalah dengan menerapkan teknik kultur jaringan. Keuntungan perbanyakn melalui kultur jaringan bisa menghasilkan tanaman dalam jumlah yang banyak dalam waktu yang relatif singkat, serta mudah untuk didistribusikan khususnya dalam bentuk planlet.

Kultur jaringan memerlukan media tanam sebagai tempat untuk menumbuhkan eksplan dalam kondisi aseptik yang pemilihannya bergantung pada spesies tanaman, jaringan atau organ yang akan digunakan dalam kultur jaringan. Salah satu media yang paling banyak digunakan adalah media dasar MS karena memiliki komposisi yang lebih lengkap daripada media dasar lainnya. Media ini mengandung garam mineral dengan konsentrasi tinggi dan senyawa N dalam bentuk amonium dan nitrat yang dapat mendukung pertumbuhan sel-sel tanaman dalam *in vitro*.

Keberhasilan dari suatu teknik kultur jaringan bergantung pada penggunaan zat pengatur tumbuh. Kombinasi antara media dasar dan ZPT akan mengoptimalkan pertumbuhan eksplan, ZPT dapat merangsang atau menghambat proses fisiologis tanaman dan memiliki peran yang penting dalam kultur jaringan

karena bila tidak menggunakan ZPT eksplan akan mengalami pertumbuhan yang lambat atau bahkan tidak tumbuh sama sekali. Menurut Sitohang (2008), menyatakan bahwa menggandakan propagul sesuai yang diinginkan dapat dirangsang dengan penggunaan zat pengatur tumbuh auksin, sitokinin, giberelin atau dikombinasikan antara zat pengatur tumbuh lainnya yang akan digunakan.

Keseimbangan dan interaksi sitokinin dan auksin menentukan pertumbuhan dan morfologi tanaman secara *in vitro*. Untuk induksi kalus embriogenik dalam penelitian ini, kombinasi zat pengatur tumbuh yang digunakan ialah 2,4-D (*2,4-Dichlorophenoxy acetid acid*) sebagai auksin dan BAP (*Benzyl Amino Purine*) sebagai sitokinin. 2,4-D diketahui efektif dalam menginduksi kalus karena menginduksi pembelahan sel (Campanoni, 2005), sedangkan BAP diketahui berperan dalam siklus pembelahan sel. Kombinasi kedua zat pengatur tersebut, diharapkan kalus yang terbentuk optimal karena 2,4-D dan BAP bersinergis untuk menginduksi membentuk kalus melalui pembelahan sel (Aziz, 2014).

Hasil penelitian Aziz (2014), penambahan hormon 2,4 D dengan konsentrasi 0,5 mg/l, 1 mg/l, dan 1,5 mg/l, serta penambahan hormon BAP dengan konsentrasi 1 mg/l dan 1,5 mg/l diperoleh hasil dimana kombinasi konsentrasi 2,4-D dan BAP berpengaruh terhadap induksi kalus umbi porang secara *in vitro*. Kombinasi konsentrasi pada perlakuan B media MS + 1 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BAP merupakan perlakuan terbaik dengan rerata waktu induksi 13 hari, rerata biomassa kalus  $567 \pm 413$  mg, rerata pembentangan eksplan  $31 \pm 1,70$  mm, dan memiliki tekstur kalus kompak dan berwarna putih. Penelitian yang dilakukan oleh Sari (2013) bahwa penambahan 2,4 D (0 mg/L, 0,5 mg/L, 1 mg/L, dan 1,5

mg/L) dan BAP (1,5 mg/L, 1 mg/L, dan 0,5 mg/L) pada berbagai kombinasi konsentrasi yang berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan kalus eksplan batang jati pada media MS secara *in vitro*. Kalus memiliki tekstur yang kompak dengan warna yang berbeda disetiap perlakuan.

Berdasarkan uraian diatas, maka akan dilakukan penelitian untuk memperoleh bibit tanaman yang berkualitas dan unggul yaitu dengan induksi kalus tanaman porang (*Amorphopallus muelleri* Blume) secara *in vitro* dengan penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP dengan konsentrasi yang tepat.

## **1.2 Hipotesis**

Hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Terdapat interaksi 2,4-D dan BAP terhadap induksi kalus tanaman porang (*Amorphopallus muelleri* Blume).
2. Terdapat konsentrasi 2,4-D yang memberi pengaruh terbaik terhadap induksi kalus tanaman porang (*Amorphopallus muelleri* Blume).
3. Terdapat konsentrasi BAP yang memberi pengaruh terbaik terhadap induksi kalus tanaman porang (*Amorphopallus muelleri* Blume).

## **1.3 Tujuan dan Kegunaan**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui konsentrasi 2,4-D dan BAP yang tepat pada induksi kalus tanaman porang (*Amorphopallus muelleri* Blume) secara *in vitro*.

Kegunaan dari penelitian yang dilakukan sebagai bahan informasi terkait tentang pengaruh pemberian konsentrasi 2,4 D dan BAP pada media dasar MS terhadap pertumbuhan kalus porang.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Tanaman Porang**

Porang merupakan tumbuhan monokotil yang tergolong dalam family *Araceae* dan memiliki nama ilmiah *Amorphophallus muelleri* Blume. Porang memiliki dua karakteristik yang dapat membedakannya dari genus *amorphophallus* yang lain, yakni tanaman porang memiliki umbi daun (*bulbil*) dan bagian dalam umbi porang warnanya orange (Supriati, 2016).

Tanaman porang merupakan tumbuhan dataran rendah yang tumbuh di daerah beriklim tropik dan subtropik mulai dari Afrika Barat hingga ke kepulauan Pasifik, termasuk Indonesia. Tanaman porang mudah hidup di antara tegakan pohon hutan seperti misalnya Jati dan Sono. Tanaman Porang di daerah Jawa dikenal dengan nama *iles-iles*, termasuk tumbuhan semak atau tanaman pendek dan tidak memiliki kayu yang memiliki tinggi 100-150 cm dengan umbi yang berada di dalam tanah yang akan dikembangbiakan (Yulianto, 2016).

Umbi porang banyak mengandung glukomanan sekitar 49%-60%, protein kasar (5%-14%), serat (2%-5%), pati (10%-30%), abu (3,4%-5,3%), gula larut (3%-5%), serta sedikit saponin dan alkaloid. Senyawa glukomanan yang terkandung dalam umbi porang ini adalah polisakarida yang berasal dari hemiselulosa yang terdiri atas rantai glukosa, manosa, dan galaktosa (Hui, 2006).

Manfaat porang dalam segi kesehatan meliputi; mengurangi kolesterol dan penurunan obesitas sebab mengandung banyak serat serta tidak mengandung lemak (Gallaher *et al.*, 2000; Purwanto, 2018), menyembuhkan penyakit kanker



(Luo, 1992), mencegah sembelit akut (Passaretti *et al.*, 1991), glukomanan dapat meningkatkan sensitivitas insulin karena memodulasi tingkat penyerapan dalam usus kecil, sehingga dapat mengurangi diabetes (Nisak, 2020).

Kultur jaringan porang dengan menggunakan tangkai daun merupakan sumber eksplan yang efisien untuk perbanyakan *in vitro* porang. Untuk menginduksi pembentukan tunas melalui proses organogenesis, ke dalam media MS tersebut ditambahkan zat pengatur tumbuh BAP dan NAA. Sehingga diperoleh hasil penelitian jumlah tunas terbanyak yaitu 19 tunas dalam waktu 3 bulan, dengan media MS yang mengandung 2 mg/L BAP (Imelda, 2008).

Tanaman porang dengan menggunakan bahan tanaman (eksplan) yaitu tunas dari biji tumbuhan porang yang sudah di subkultur. Tanaman porang yang unggul dapat dihasilkan dari kultur jaringan dengan menggunakan media MS yang ditambah hormon BAP 1,5 mg/L untuk meningkatkan jumlah tunas, tinggi kuncup daun dan jumlah anak daun serta hormon IBA 1,0 mg/L untuk merangsang pengkalusan dan jumlah akar. Penambahan BAP dan IBA pada media MS tidak berpengaruh nyata terhadap kontaminasi kalus dan tingkat kematian kalus. Interaksi antara BAP dan IBA yang diberikan pada media MS berpengaruh tidak nyata terhadap proses pengkalusan, kontaminasi, tingkat kematian, jumlah tunas, tinggi kuncup daun, jumlah anak daun dan jumlah akar (Suheriyanto, 2012).

## 2.2 Kultur *In Vitro*

Kultur jaringan tumbuhan adalah suatu teknik mengambil bagian-bagian tanaman seperti protoplas, sel, sekelompok sel, jaringan, organ, dan ditumbuhkan di lingkungan dan medium buatan yang sesuai pada kondisi steril atau aseptis. Bagian tanaman baik sel maupun jaringan yang akan ditumbuhkan disebut eksplan. Kebutuhan eksplan dalam ukuran kecil tidak akan mengganggu keberadaan tumbuhan induknya. Kondisi steril atau aseptis harus dipenuhi oleh eksplan, beberapa peralatan serta tahap pengerjaan kultur sehingga dipastikan tidak mengandung kontaminan berupa mikroorganisme. Pertumbuhan mikroorganisme yang umumnya lebih cepat dibanding jaringan tumbuhan akan menghambat pertumbuhan eksplan (Mastuti, 2017).

Kultur *in vitro* banyak digunakan untuk melanjutkan atau memperbaiki metode pemuliaan tradisional atau konvensional untuk melakukan modifikasi dan perbaikan terhadap suatu tanaman. Dengan menggunakan teknik *in vitro* ini dapat menghasilkan jumlah tanaman yang berlipat ganda dalam waktu yang singkat, seragam, dan bermutu handal (Harahap, 2011).

Salah satu teknik kultur jaringan yang biasa digunakan adalah kultur kalus. Pembentukan kalus dapat terjadi pada organ tanaman yang mengalami luka, sel-sel parenkim yang letaknya berdekatan dengan luka tersebut bersifat meristematik dan dapat membentuk masa sel yang tidak terdeferensi. Kultur kalus dapat dihasilkan dari semua bagian tanaman, baik akar, daun muda, tunas, hipokotil, endosperm dan mesofil. Namun, organ yang berbeda akan menunjukkan kecepatan pembelahan sel yang berbeda pula (Pandiangan, 2011).

Menurut Hardiyanto (2004), bahwa teknik kultur jaringan dengan induksi kalus mempunyai keuntungan diantaranya menghemat waktu, tenaga, dapat diproduksi dalam jumlah yang cukup banyak dengan kondisi yang terkontrol dan dapat diproduksi sesuai dengan kebutuhan.

### **2.3 Zat Pengatur Tumbuh**

Zat pengatur tumbuh adalah senyawa organik bukan nutrisi yang dalam konsentrasi rendah dapat mendorong, menghambat, atau secara kualitatif mengubah pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Zat Pengatur Tumbuh adalah hormon sintetis yang ditambahkan dari luar tubuh tanaman. Zat ini berfungsi untuk merangsang pertumbuhan misalnya pada pertumbuhan akar, pertumbuhan tunas, proses perkecambahan, dan lain sebagainya. Zat pengatur tumbuh pada tanaman adalah senyawa organik yang bukan hara (*nutrien*) yang dalam jumlah sedikit dapat mendukung, menghambat, dan dapat merubah proses fisiologi tanaman. Zat pengatur tumbuh dalam tanaman terdiri dari lima kelompok yaitu Auksin, Giberelin, Sitokinin, Etylen, dan Inhibitor dengan ciri khas dan pengaruh yang berlainan terhadap proses fisiologi (Puspitasari, 2008).

Auksin adalah zat pengatur tumbuh yang berperan dalam proses pemanjangan sel, merangsang pertumbuhan akar, menghambat pertumbuhan tunas lateral, mencegah absisi daun dan buah (Hartmann, et al. 1997). Auksin dapat diperoleh secara sintetis dan alami, contoh auksin sintesis adalah *Indole Butyric Acid* (IBA), *2,4 dichlorophenoxy acetid acid* (2,4 D), dan *Naphthalene Acetic Acid* (NAA), sedangkan auksin alami salah satunya dapat diperoleh dari ekstrak tomat, air kelapa dan bawang merah (Sofwan, 2018).

Sitokinin adalah salah satu golongan ZPT yang ditemukan pada tanaman. Sitokinin berfungsi memacu pembelahan sel dan pembentukan organ. Salah satu jenisnya adalah BAP. Sitokinin merupakan ZPT yang mendorong pembelahan (sitokinesis). Beberapa macam sitokinin merupakan sitokinin alami (kinetin, zeatin) dan beberapa lainnya merupakan sitokinin sintetik (Puspitasari, 2008).

#### **2.4 2,4-D dan BAP**

2,4-D merupakan auksin sintesis yang paling efektif dalam produksi kultur embriogenik. 2,4-D suatu golongan auksin yang digunakan untuk menginduksi terbentuknya kalus dari jaringan tanaman karena sifatnya yang kuat sehingga mampu merangsang pembentukan kalus. Salah satu penelitian menunjukkan 2,4 D digunakan untuk induksi kalus dan kalus yang dihasilkan bersifat remah, putih kekuningan dan berbiomassa cukup tinggi. Konsentrasi auksin 2,4 D yang dibutuhkan untuk pertumbuhan kalus berkisar 0,5 ppm- 5 ppm. (Azizah, 2017).

BAP merupakan sitokinin sintetik yang banyak digunakan dalam perbanyakan tanaman secara *in vitro*, karena BAP mempunyai efektivitas yang cukup tinggi untuk perbanyakan tunas, mudah didapat dan relatif murah. Pemberian BAP juga berperan dalam menginduksi kalus yang dapat memicu pembelahan sel. BAP memiliki struktur dasar yang sama dengan kinetin tetapi lebih efektif karena BAP mempunyai gugus benzil (Lestari, 2018).

Pemberian beberapa kombinasi zat pengatur tumbuh 2,4 D dan BAP ke dalam media kultur mampu memacu terbentuknya kalus pada eksplan. Penelitian Khumaidah dan Handayani (2010), bahwa eksplan kotiledon muda tanaman kedelai mulai berkalus pada umur 1-2 minggu setelah kultur dengan persentase

eksplan berkalus 75% pada perlakuan 1 mg/L 2,4 D + 1 mg/L NAA. Penelitian yang dilakukan oleh Manurung (2007), menyatakan bahwa pada kultur *in vitro* buah Makassar (*Brucea javanica*) menyatakan bahwa BAP 1,5 mg/L merupakan konsentrasi yang optimum dalam pertumbuhan biji buah makassar secara *in vitro* untuk tujuan perbanyakan.

## **BAB III**

### **METODOLOGI**

#### **3.1 Tempat dan Waktu**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bio-Sains dan Bioteknologi Reproduksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanudin, Makassar. Penelitian ini berlangsung pada bulan Oktober 2021 hingga Februari 2022.

#### **3.2 Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoklaf, LAF (*Laminar Air Flow*), *hansprayer*, timbangan analitik, gelas kimia, gelas ukur, Erlenmeyer, pipet volume, pipet tetes, spatula, pH meter, botol kultur, batang pengaduk, cawan petri, pinset, *scalpel*, gunting, panci, kompor, ATK dan kamera.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman porang (*Amorphopallus muelleri* Blume), Media Murashige Skoog (MS), agar-agar bubuk, gula, ZPT BAP, ZPT 2,4 D, alkohol, *aquades*, plastik, karet gelang, *tissue*, label, sabun cuci, dan spirtus.

#### **3.3 Metode Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan dalam bentuk percobaan faktorial (2 faktor) menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) sebagai rancangan lingkungannya. Faktor pertama yaitu konsentrasi 2,4 D (A) terdiri dari 4 taraf perlakuan yaitu:

a0 = Kontrol (0 mg/L)

a1 = 0,5 mg/L

a2 = 1 mg/L

a3 = 1,5 mg/L