

PENGARUH ARANG AKTIF, BENZILADENIN, DAN KINETIN TERHADAP PERTUMBUHAN TUNAS JATI SOLOMON (*Tectona grandis* Linn. f) *IN VITRO*

Husen Hariadi¹⁾, Yusnita¹⁾, Melya Riniarti¹⁾, Dwi Hapsoro⁴⁾,

¹⁾Fakultas Pertanian, Universitas Lampung

email:hariadihusen93@gmail.com

email: yusnita.said@yahoo.com

ABSTRACT

*Tissue culture techniques can be used for propagation of uniformly large teak solomon seeds. The purpose of this research was knowing the effect of activated charcoal, the addition of benzyladenine (BA) and combination of BA with 6-furfurylaminopurine (kinetin) to the growth of shoots of solomon teak in vitro. The solomon teak explants used were single-stem cuttings from aseptic shoots obtained from in vitro cultures. This research was conducted in laboratory with complete randomized design with 3 replications. The experimental treatment was a single factor consisting of basic MS medium (Murashige and Skoog, 1962), with 6 treatments: MS without growth regulator (control), MS without growth regulator + 2 g/l activated charcoal, MS + 0,1 m/l BA, MS + 0,2 m/l BA, MS + 0,1 m/l BA + 0,1 m/l kinetin and MS + 0,2 m/l BA + 0,1 m/l kinetin. Observation on the number of books/shoots, number of leaves/shoots, shoot/bud height and visual appearance of culture was taken at 8 weeks after planting. The data were analyzed for variety and continue the separation of the LSD at 5% level. The results showed that in general, all six treatments could be used for propagation of in vitro teak solomon (*Tectona grandis* Linn. f) and produced at least 6,22 books/shoots every 8 weeks. The best media were MS medium + 0,1 m/l BA and MS + 0,1 m/l BA + 0,1 m/l kinetin, because it able to produce 7,78 books/shoots. The highest number of leaves was obtained at the treatment of MS + 0,1 m/l BA, while the average shoots/shoots produced were not different for all.*

Keywords: Activated charcoal, benzyladenine, kinetin, teak solomon, tissue culture

PENDAHULUAN

Industri perkebunan memiliki kualitas dan nilai jual yang sangat tinggi. Kebutuhan akan kayu jati selalu meningkat baik di dalam maupun luar negeri sedangkan populasi dan pasokannya semakin menipis karena siklus umur panen jati konvensional relatif lama (sekitar 45 tahun). Untuk mengatasi masalah tersebut, diperlukan tanaman jati yang memiliki umur panen relatif cepat dengan keindahan dan kualitas serat memadai yang dapat memenuhi kebutuhan pasar (Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, 2003).

Perbanyakan tanaman jati umumnya dilakukan melalui biji atau bagian vegetatif seperti stek atau sambungan. Untuk menyediakan tanaman jati yang seragam secara genetika (*true-to-type*) dalam jumlah banyak, sulit dilakukan melalui cara

perbanyakan konvensional (biji). Perbanyakan tanaman jati melalui setek menghasilkan bibit yang *true-to-type* namun tanaman tumbuh lambat. Oleh karena itu, saat ini banyak digunakan perbanyakan tanaman melalui teknik kultur jaringan (Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, 2003).

Kultur jaringan adalah suatu metode untuk mengisolasi bagian-bagian tanaman seperti sel, jaringan atau organ serta menumbuhkannya secara aseptik di dalam suatu medium buatan eksplan sehingga bagian-bagian tanaman tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman lengkap kembali (Yusnita, 2003).

Salah satu faktor penentu keberhasilan perbanyakan tanaman secara kultur jaringan adalah penggunaan zat pengatur pertumbuhan (ZPT) yang tepat. ZPT

adalah senyawa organik bukan hara yang dalam konsentrasi rendah dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan tanaman. ZPT yang banyak digunakan dalam teknik kultur jaringan adalah golongan sitokinin dan auksin. Penggunaan sitokinin dalam konsentrasi yang tepat dapat merangsang terbentuknya tunas pada tanaman. Jenis sitokinin yang banyak digunakan adalah *benziladenin* (BA) (Purwanta, 2015).

Perbanyakan jati dengan kultur jaringan umumnya dilakukan melalui pola regenerasi percabangan tunas aksilar nodus eksplan potongan batang satu buku. Setelah dikulturkan selama 6 – 8 minggu, maka akan dihasilkan tunas mempunyai beberapa buku. Buku-buku pada tunas tadi dapat disubkulturkan menjadi eksplan-eksplan baru yang masing-masing akan menghasilkan tunas-tunas beberapa buku lagi. Demikian seterusnya hingga dihasilkan banyak tunas (Yusnita, 2015).

Penelitian ini bertujuan mempelajari pengaruh pemberian *arang aktif* (AC), *benziladenin* (BA) dan kombinasi *benziladenin* + *6-furfurylaminopurine* (kinetin) terhadap pertumbuhan tunas (penggandaan buku) jati solomon (*Tectona grandis* Linn f.) secara *in vitro*.

KAJIAN TEORI

Perbanyakan jati solomon pada umumnya dilakukan secara vegetatif, seperti setek pucuk/setek batang dan kultur jaringan. Metode kultur jaringan dikembangkan untuk membantu memperbanyak tanaman. Bibit yang dihasilkan dari kultur jaringan mempunyai keunggulan, antara lain mampu menghasilkan bibit dalam jumlah besar dengan waktu singkat dan tidak membutuhkan tempat yang luas, kesehatan dan mutu bibit lebih terjamin, kecepatan tumbuh bibit lebih cepat dibandingkan dengan perbanyakan secara konvensional, dan mempunyai sifat identik dengan induknya.

Regenerasi *in vitro* dalam penelitian ini dilakukan dengan penggandaan tunas (pertumbuhan tunas) jati Solomon (*Tectona grandis* Linn f.) *in vitro* yang berasal dari potongan satu nodal eksplan tunas jati solomon *in vitro*, kemudian mengkulturkan tunas jati solomon *in vitro*

ke dalam media yang mempunyai komposisi yang sesuai untuk proliferasi tunas sehingga diperoleh penggandaan tunas dengan cepat. Setiap tunas yang dihasilkan dapat dijadikan sebagai sumber untuk penggandaan tunas selanjutnya sehingga diperoleh tunas yang banyak dalam waktu yang relatif lebih singkat (Yusnita, 2015). Media yang digunakan untuk perbanyakan tunas jati solomon *in vitro* adalah media dasar MS (*Murashige and Skoog*, 1962). Zat pengatur tumbuh didefinisikan sebagai senyawa organik bukan nutrisi yang aktif dalam jumlah kecil yang disintesis pada bagian tertentu tanaman dan pada umumnya diangkut ke bagian lain tanaman dimana zat tersebut menimbulkan tanggapan secara biokimia, fisiologis dan morfologis (Wattimena, 1988).

Dua golongan ZPT yang penting dalam kultur jaringan yaitu auksin dan sitokinin. Sitokinin mempengaruhi berbagai proses fisiologi di dalam tanaman. Aktivitas utama sitokinin adalah sitokinesis atau pembelahan sel. Aktivitas ini yang menjadi kriteria utama untuk menggolongkan suatu zat pengatur tumbuh ke dalam sitokinin (Wattimena, 1988).

Fungsi ZPT dalam hal ini adalah membantu pembelahan dan perkembangan sel serta meningkatkan metabolisme dalam tubuh eksplan. Sitokinin juga berperan dalam mengontrol pembelahan sel, inisiasi meristem tunas, diferensiasi daun dan akar, biogenesis kloroplas, dan toleransi stress. Sitokinin bersifat memacu pembelahan sel sehingga sering digunakan sebagai zat perangsang tumbuh tunas. Oleh karena itu, untuk mempercepat pertumbuhan tunas jati solomon *in vitro* diperlukan pengaplikasian ZPT berupa sitokinin (Yusnita dan Hapsoro, 2002).

Sitokinin yang sering digunakan untuk mempercepat pertumbuhan tunas adalah BAP/BA(6-benzyl amino purine/6-benzyladenine) dan kinetin (6-furfurylaminopurine) merupakan zat pengatur tumbuh golongan sitokinin yang telah banyak digunakan dalam kultur jaringan. Pemberian sitokinin (BA dan kinetin) dan arang aktif (AC) pada 1 L media dasar (Murashige and Skoog, 1962) diharapkan mampu meningkatkan keberhasilan pertumbuhan eksplan jati solomon (*Tectona grandis* Linn f.) *in vitro*

yang ditunjukkan oleh meningkatnya jumlah buku /tunas, tinggi tunas, jumlah daun /tunas, jumlah akar /tunas, jumlah kalus /tunas dan penampilan visual eksplan /tunas dengan pengamatan selama 8 minggu.

Pada zat pengatur tumbuh yang digunakan sitokinin (BA dan Kinetin) dapat merangsang pembelahan sel dan pembesaran sel pada daun yang layu, perkembangan kloroplas dan sintesis klorofil, memacu perkembangan lanjut etioplas menjadi kloroplas khususnya mendorong pembentukan grana, setelah itu BA dan kinetin meningkatkan pembentukan klorofil. Arang aktif juga berperan untuk menyerap racun dan senyawa inhibitor yang disekresikan oleh *planlet* ke dalam media. Selain dapat menyerap senyawa etilen, arang aktif mampu menyerap senyawa fenol yang berasal dari eksplan (Yusnita, 2015).

Dari kerangka pemikiran yang telah dikemukakan, dapat disimpulkan hipotesis sebagai berikut;

1. Perbedaan Peningkatan konsentrasi *benzyladenine* 0,1 mg/l dan *benzyladenine* 0,2 mg/l dapat meningkatkan pertumbuhan tunas jati solomon *in vitro*.
2. Pemberian *benzyladenine* dan *kinetin* dapat meningkatkan pertumbuhan tunas jati solomon *in vitro* lebih banyak dibandingkan penggunaan BA tunggal.
3. Peningkatan konsentrasi *benzyladenine* yang dikombinasikan dengan *kinetin* dapat meningkatkan pertumbuhan tunas jati solomon *in vitro*.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Ilmu Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, Bandar Lampung. Penelitian ini dilaksanakan dari tanggal 2 Mei 2017 sampai 21 Desember 2017.

Alat dan Bahan

Alat-alat digunakan pada tahap persiapan dan pembuatan media antara lain timbangan digital, neraca analitik, botol kultur, labu takar, labu *erlenmeyer*, pipet tetes, gelas piala, gelas ukur, spatula, sendok spatula, pH meter,

kompas, autoklaf (*Budenberg dan Tomy*), panci, *destillator*, botol aquades, botol scott, *magnetic stirrer* dan alat tulis serta look book penelitian. Selain itu, alat-alat yang digunakan pada tahap penanaman, seperti *laminar air flow cabinet* (LAFC), landasan, cawan petri, lampu bunsen, *hand sprayer*, *shaker*, kapas steril, tisu steril, karet steril dan alat-alat diseksi (*scalpel*, *surigical blade*, pinset).

Bahan tanaman yang digunakan dalam percobaan ini adalah planlet jati klon (*Tectona grandis* Linn f.). Media dasar yang digunakan adalah berisi garam-garam MS yang diperkaya dengan 20 gram/l gula (*sukrosa*), *tiamin*-HCl 0,1 mg/l, *asam nikotinat* 0,5 mg/l, *piridoksin*-HCl 0,5 mg/l, *glisin* 2,0 mg/l, *asam askrobat* 0,5 mg/l serta dipadatkan dengan 7 gram/l agar-agar, air aquades steril, alkohol 70%, KOH 1 N, HCL 1 N, dan kertas label. Sedangkan media perlakuan yang digunakan berupa media MS dengan penambahan ZPT yaitu 2 g/l arang aktif, 0,1 mg/l *benzyladenine* (BA) dan 0,2 mg/l *benzyladenine* (BA) dengan penambahan berbagai konsentrasi kombinasi *benzyladenine* (BA) dengan 0,1 mg/l *6-furfurylaminopurine* (*kinetin*) sesuai perlakuan.

Rancangan Penelitian

Rancangan perlakuan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 ulangan dan 6 perlakuan. Masing-masing unit (satuan) percobaan terdiri dari 1 botol kultur yang masing-masing berisi 2 eksplan. Penelitian ini menggunakan media dasar MS. Media kontrol berisi garam-garam MS tanpa ZPT. Media perlakuan yang digunakan adalah media kontrol dan berupa 2 g/l arang aktif, 0,1 mg/l dan 0,2 mg/l *benzyladenine* (BA) dengan penambahan berbagai konsentrasi kombinasi *benzyladenine* (BA) dengan 0,1 mg/l *6-furfurylaminopurine* (*kinetin*) sesuai perlakuan.

Analisis Data

Homogenitas data setiap variabel diuji dengan Uji Bartlett (*Bartlett's Test of Equal Variances*), Uji Analisis One-Way AOV dan Uji Analisis Anova (*Analysis of Variance*), Uji Tukey's (*Tukey's 1 Degree of Freedom*

Test for Nonadditivity) dan rerata jumlah setiap variabel yang diamati. Apabila asumsi terpenuhi, selanjutnya akan dilakukan analisis ragam. Pemisahan nilai tengah dilakukan dengan uji beda nyata terkecil (BNT) atau (*LSD All-Pairwise Comparison Test*) dengan taraf 5%.

Sterilisasi Botol dan Alat

Semua alat yang digunakan dalam kegiatan kultur jaringan harus berada dalam kondisi aseptik. Sterilisasi botol sebagai tempat kultur merupakan langkah pertama yang harus dilakukan. Sterilisasi botol dilakukan dalam 2 tahapan. Tahap pertama botol hasil kultur sebelumnya disterilisasi menggunakan autoklaf selama 30 menit pada suhu 121°C dan tekanan 1,5 kg/cm². Selanjutnya botol dicuci dengan menghilangkan sisa media tanam sebelumnya dan direndam dalam air yang telah dicampur 40 gram detergen dan 15 ml desinfektan selama 1 malam. Tahap kedua, botol yang sudah direndam dicuci bersih seluruh bagiannya dan kertas label yang tertera pada botol dihilangkan. Botol yang sudah bersih dibilas menggunakan air mengalir lalu direndam air mendidih selama 15 menit hasil penyulingan alat destilator.

Botol hasil rendaman kemudian ditiriskan dan ditutup dengan plastik menggunakan karet. Sterilisasi tahap akhir dilakukan menggunakan autoklaf selama 30 menit pada suhu 121°C dan tekanan 1,5 kg/cm². Alat yang digunakan berupa alat diseksi (pinset dan *scalpel*), cawan petri, keramik, kapas, dan gelas ukur. Alat diseksi, cawan petri, dan landasan (keramik) yang sudah bersih dibungkus menggunakan kertas lalu dimasukkan ke dalam plastik tahan panas. Kapas bersih dimasukkan ke dalam botol kultur steril untuk diautoklaf yang nantinya akan digunakan dalam proses subkultur atau menanam eksplan. Seluruh alat disterilisasi menggunakan autoklaf selama 30 menit pada suhu 121 °C dan tekanan 1,5 kg/cm².

Pembuatan Media

Penelitian ini menggunakan media dasar MS (*Murashige and Skoog*, 1962). Terdapat 2 macam media yang digunakan yaitu media kontrol dan media perlakuan. Media kontrol berisi garam-garam MS tanpa ZPT. Media perlakuan yang

digunakan adalah media kontrol berupa penambahan 2 g/l arang aktif, 0,1 mg/l dan 0,2 mg/l *benziladenin* (BA) dengan penambahan berbagai konsentrasi kombinasi *benzyladenine* (BA) dengan 0,1 mg/l *6-furfurylaminopurine* (kinetin) sesuai perlakuan.

Pembuatan media dilakukan dengan melarutkan garam-garam MS; 2 g/l arang aktif, 0,1 mg/l BA; 0,2 mg/l BA, 0,1 mg/l kinetin dan *sukrosa* hingga homogen. Larutan yang telah homogen kemudian ditera dengan menambahkan aquades menggunakan labu ukur 1 L. Stok gelas ukur dan labu untuk pembuatan media MS 1 liter dan lemari es *showcase* tempat penyimpanan stok larutan agar tetap sterilisasi. Setelah formulasi media MS dan hormon zat pengatur tumbuh sudah disiapkan. Selanjutnya pH-media diatur menjadi 5,8 jika pH kurang dari 5,8 maka diberi penambahan KOH 1 N sedangkan jika pH lebih dari 5,8 maka diberi HCl 1 N

Setelah itu ke dalam media ditambahkan 7 g/l bubuk agar-agar kemudian media dimasak hingga mendidih lalu dimasukkan ke dalam botol-botol kultur sebanyak 30 botol dan setiap botol berisi 30 ml. Botol yang berisi media ditutup dengan plastik bening kemudian diikat dengan karet dan disterilisasi dengan autoklaf selama 7 menit pada suhu 121°C dan tekanan 1,5 kg/cm². Setelah sterilisasi berakhir media dikeluarkan dari autoklaf, didiamkan hingga dingin, lalu disimpan dalam ruang kultur.

Penanaman Eksplan

Penanaman eksplan dilakukan di dalam LAFC (*laminar air flow cabinet*). Eksplan berupa tunas satu buku (*nodal explant*) dengan ukuran 1 x 1,5 cm. Setiap botol berisi 2 eksplan. Botol-botol kultur tersebut kemudian diletakkan pada rak kultur (*growth chamber*) dalam ruang terang dan ber-AC (*air conditioner*) dengan suhu ruang 25°C +/- 2 °C selama 2 bulan. Pencahayaan di ruang kultur menggunakan lampu fluoresens (TL) dengan kuat penerangan antara 1000 hingga 2.000 lux secara terus menerus dan fotoperiodisitasnya 16 jam terang/ 8 jam gelap setiap hari.

Pengamatan

Pengamatan dilakukan terhadap jumlah buku-buku /tunas, tinggi tunas /tunas, jumlah daun /tunas, penampilan visual kultur pada umur 8 minggu setelah penanaman eksplan. Variabel yang diamati adalah: buku-buku /tunas, tinggi tunas dihitung menggunakan kertas milimeterblock dan penggaris, jumlah daun /tunas menggunakan kaca pembesar, dan penampilan visual kultur diamati dengan mengambil gambar eksplan menggunakan kamera DSLR (lensa fix dan lensa tele) sampai 8 MST pendokumentasikan ini dilakukan sebagai penunjang hasil pengamatan variabel lainnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Perkembangan umum kultur

Eksplan berupa potongan batang satu buku tanpa daun yang ditanam pada media perlakuan berbeda mulai menunjukkan pertumbuhan mata tunas setelah berumur kurang lebih 1 minggu setelah tanam. Pada minggu-minggu berikutnya hingga minggu ke 8 setelah tanam, eksplan menunjukkan respons pertumbuhan lebih lanjut yang berbeda-beda terhadap 6 perlakuan yang dicobakan.

Persentase pertumbuhan tunas Jati Solomon In Vitro selama 8 MST.

Tingkat persentase eksplan atau tunas hidup pada tunas jati solomon dengan 6 perlakuan yang dicobakan menunjukan hasil 100% terhadap pada semua percobaan yang digunakan terhadap 9 botol pra-perlakuan yang dicobakan dengan selama pengamatan 8 minggu. Persentase eksplan hidup di media 6 perlakuan 8 MST dapat dilihat pada Tabel 1.

Rekapitulasi Hasil Analisis Ragam Pengaruh media Arang Aktif, BA dan Kinetin terhadap pertumbuhan tunas Jati Solomon In Vitro.

Hasil rekapitulasi ragam dapat dilihat pada Tabel 2. Dari Tabel 2 terlihat, bahwa perlakuan ZPT yang dicobakan berpengaruh nyata terhadap € jumlah buku /tunas dan € jumlah daun /tunas,

namun tidak berpengaruh terhadap € tinggi tunas pada umur 8 MST

Tabel 1. Persentase eksplan hidup di Media Pra-pelakuan 8 MST.

Media	∑ Eksplan awal	∑ Eksplan hidup	% Eksplan hidup
MS 0	9	9	100
MS + 2 g/l AC	9	9	100
MS + BA 0,1 mg/l	9	9	100
MS + BA 0,2 mg/l	9	9	100
MS + BA 0,1 mg/l + Kinetin 0,1 mg/l	9	9	100
MS + BA 0,2 mg/l + Kinetin 0,1 mg/l	9	9	100

Keterangan :

MS : *Murashige and Skoog, 1962*

Kinetin : *6-furfurylaminopurine*

BA : *Benzyladenine*

AC : *Arang Aktif (Carbon Aktif)*

Jumlah Buku / Tunas

Hasil uji beda nyata terkecil (BNT) 0,05 menunjukkan bahwa perlakuan MS 0 (tanpa ZPT) menghasilkan € jumlah buku /tunas yang palingsedikit yaitu antara 6,22 buku /tunas (Gambar 1). Perlakuan MS + BA 0,1 mg/l dan MS + BA 0,1 mg/l + kinetin 0,1 menghasilkan buku-buku paling banyak dibandingkan dari perlakuan lain yaitu 7,44 dan 7,78 buku /tunas. Sedangkan, perlakuan MS + BA 0,2 mg/l dan MS + BA 0,2 mg/l + kinetin 0,1 mg/l menghasilkan jumlah buku yang lebih banyak dibandingkan kontrol tanpa zpt.

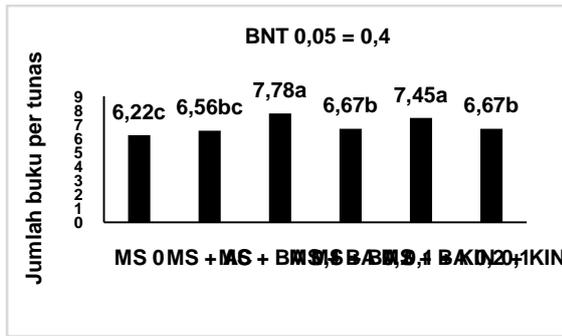
Tabel 2. Rekapitulasi Hasil *Analysis of Variance*

Sumber Keragaman	Signifikasi Pada Variabel		
	€ Jumlah Buku /tunas	€ Tinggi Tunas tn	€ Jumlah Daun /tunas
Perlakuan	*	tn	*

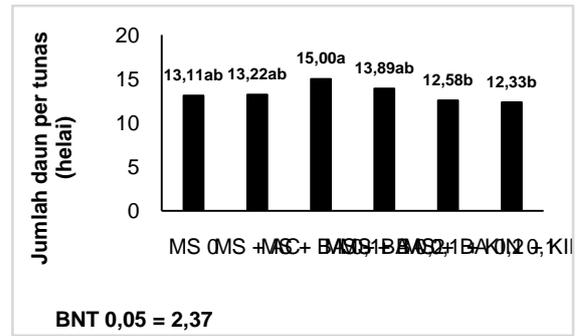
Keterangan :

* = Berbeda nyata pada taraf 5%

tn = Tidak berbeda nyata pada taraf 5%



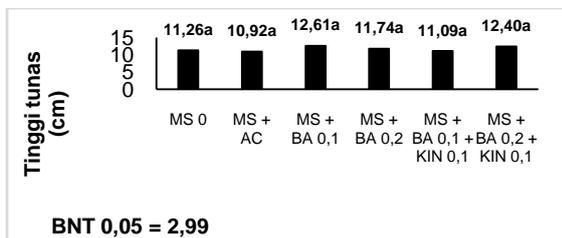
Gambar 1. Rata-rata jumlah buku-buku /tunas pada kultur *in vitro* jati solomon umur 8 MST (minggu setelah pengamatan). Nilai tengah yang diikuti dengan huruf yang sama berbeda nyata pada taraf dengan uji BNT pada taraf 5%.



Gambar 3. Rata-rata jumlah tinggi tunas pada kultur *in vitro* jati solomon umur 8 MST (minggu setelah pengamatan). Nilai tengah yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbedanyata pada taraf dengan uji BNT pada taraf 5%.

Tinggi Tunas

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan arang aktif, BA dan kinetin tidak berpengaruh nyata terhadap tinggi tunas jati solomon *in vitro* setelah dikulturkan selama 8 minggu, kisaran tinggi tunas antara 10,92 cm hingga 12,61 cm.



Gambar 2. Rata-rata jumlah tinggi tunas pada kultur *in vitro* jati solomon umur 8 MST (minggu setelah pengamatan). Nilai tengah yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbedanyata pada taraf dengan uji BNT pada taraf 5%.



Gambar 4. Salah satu ulangan penampilan kultur tunas jati solomon *in vitro* pada 6 perlakuan yang dicobakan pada umur 8 MST.

Keterangan :

- A = Media MS tanpa ZPT
- B = Media MS + 2 g/l Arang Aktif
- C = Media MS + Benziladenin 0,1 mg/l
- D = Media MS + Benziladenin 0,2 mg/l
- E = Media MS + Benziladenin 0,1 mg/l + Kinetin 0,1 mg/l
- F = Media MS + Benziladenin 0,2 mg/l + Kinetin 0,1 mg/l

PEMBAHASAN

Perbanyak tanaman dengan teknik kultur jaringan tanaman dapat menghasilkan tanaman yang secara genetik sama dengan induknya serta waktu yang dibutuhkan lebih cepat. Pada hasil pengamatan 8 MST dari 6 perlakuan yang dicobakan berpengaruh nyata pada € jumlah buku /tunas dan € jumlah daun /tunas tetapi tidak berpengaruh nyata pada € tinggi tunas. Hal ini diduga karena kandungan nitrogen yang tinggi pada media 1L MS. Kandungan nitrogen pada media 1L MS sebesar 2.816 mg/l. Menurut Yusnita (2003), dalam kultur

Jumlah Daun / Tunas

Hasil uji beda nyata terkecil (BNT) 0,05 dapat dilihat pada Gambar 3, menunjukkan bahwa perlakuan MS + BA 0,1 mg/l menghasilkan jumlah helai daun paling banyak yaitu € daun /tunas dibandingkan perlakuan lainnya yang menghasilkan kisaran 12,33 – 13,89 helai daun /tunas.

Penampilan Visual Eksplan

Penampilan visual kultur pertumbuhan dan perkembangan tunas-tunas jati solomon yang diamati pada 8 minggu setelah dikulturkan Gambar 4.

jaringan, proses pertumbuhan maupun morfogenesis eksplan yang dikulturkan sangat dipengaruhi oleh ketersediaan nitrogen. Nitrogen merupakan unsur hara makro esensial bagi tanaman serta penyusun utama protein dan asam amino, unsur ini juga terdapat pada klorofil tanaman. Apabila jumlah nitrogen lebih banyak dibandingkan dengan unsur lainnya, maka tanaman akan menghasilkan protein lebih banyak dan daun akan tumbuh lebih lebar.

Selain kandungan nitrogen, juga diduga bahwa media dasar MS mengandung komponen unsur hara makro dan mikro lebih lengkap. Pembesaran tunas membentuk struktur organ tanaman (tinggi tanaman/batang, daun dan akar) adalah fase morfogenesis. Fase morfogenesis adalah proses pertumbuhan dan diferensial sel-sel individu menjadi jaringan kemudian menjadi organ dan akhirnya menjadi organisme yang dapat dikenali. Proses ini dipengaruhi oleh faktor-faktor lingkungan, salah satunya adalah cahaya. Morfogenesis pada tanaman terutama terjadi melalui pertumbuhan diferensial (Yusnita, 2010).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada perlakuan MS + BA 0,1 mg/l dan MS + BA 0,1 mg/l + Kinetin 0,1 menghasilkan buku-buku /tunas paling banyak dibandingkan dari perlakuan lain yang berkisar antara 7,44 hingga 7,78 dan jumlah daun sebanyak 12,56 hingga 15,00 helai daun. Hal ini dikarenakan penambahan BA secara eksogen pada konsentrasi tertentu dapat meningkatkan konsentrasi sitokinin endogen sehingga pertumbuhan dan perbanyakan buku dan daun dapat menghasilkan jumlah yang lebih banyak. Yusnita(2015) menyebutkan bahwa apabila konsentrasi sitokinin lebih besar dari auksin maka akan menstimulasi pertumbuhan dan perbanyakan buku-buku dan daun. Selain itu, Sandra (2013) menyebutkan bahwa sitokinin dapat menghambat dominansi apikal dan merangsang proliferasi tunas ketiak dan munculnya tunas-tunas ketiak baru sehingga secara signifikan dapat meningkatkan jumlah tunas ketiak. Semakin banyak tunas ketiak yang muncul akan meningkatkan jumlah buku pada eksplan sehingga, peningkatan jumlah tunas berbanding lurus dengan peningkatan jumlah buku.

Setiap tumbuhan memiliki kandungan ZPT endogen pada kadar yang berbeda di dalam tubuhnya. Abbas (2011) menyebutkan bahwa BA merupakan salah satu jenis sitokinin yang dibutuhkan dalam multiplikasi tunas dari jaringan dewasa dalam medium MS. Menurut Yusnita (2015) *benziladenin* (BA) merupakan salah satu jenis sitokinin yang berperan dalam proses pembelahan sel. Pemberian BA secara eksogen menyebabkan peningkatan konsentrasi sitokinin endogen sehingga dapat meningkatkan aktivitas pembelahan sel.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan arang aktif, BA dan kinetin tidak nyata terhadap pada tinggi tunas jati solomon, yang menghasilkan tinggi tunas berkisar antara 10,92 cm hingga 12,61 cm tinggi tunas dari 6 perlakuan yang dicobakan. Nursyamsi dkk (2007) menunjukkan perlakuan berbagai konsentrasi BAP (*Benzyl Amino Purin*) berpengaruh sangat nyata terhadap tinggi tunas, memperlihatkan bahwa konsentrasi 0,5 ppm BAP memberikan hasil yang terbaik yaitu mencapai tinggi tunas rata-rata 7,2 cm dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan 0,10 dan 0,15. Hal ini berarti, pemberian BAP dengan konsentrasi rendah, sudah dapat memacu pertumbuhan tinggi tunas pada planlet jati. Pertumbuhan tinggi tunas menunjukkan ciri keberhasilan pembiakan kultur jaringan, dan semakin tinggi tunas suatu planlet maka lebih banyak ruas yang dapat diperoleh untuk dijadikan sebagai stek mikro, untuk tahap multiplikasi bibit.

Berdasarkan hasil uji BNT 0,05 pada tunas jati solomon menunjukkan bahwa pada perlakuan BA, kinetin dan arang aktif yang dicobakan berpengaruh nyata terhadap € jumlah daun /tunas. Hasil uji beda nyata terkecil (BNT) 0,05 menunjukkan bahwa perlakuan MS + BA 0,1 mg/l + kinetin 0,1 mg/l dan MS + BA 0,2 mg/l + kinetin 0,1 mg/l menghasilkan jumlah daun /tunas yang paling sedikit yaitu 12,33 helai dan 12,56 helai daun. Sedangkan, perlakuan MS + BA 0,1 mg/l dan MS + BA 0,2 mg/l menghasilkan jumlah daun /tunas yang lebih banyak dibandingkan perlakuan lain yaitu 13,89 helai dan 15,00 helai daun. Pada perlakuan MS 0 dan MS + 2 g/l arang aktif menghasilkan jumlah daun /tunas yaitu 13,11 helai dan 13,22 helai daun lebih

banyak dari perlakuan MS + BA 0,1 mg/l + kinetin 0,1 mg/l dan MS + BA 0,2 mg/l + kinetin 0,1 mg/l dan lebih sedikit dibandingkan pada perlakuan MS + BA 0,1 mg/l dan MS + BA 0,2 mg/l (Gambar 3).

Hasil percobaan menunjukkan bahwa tunas-tunas yang dihasilkan pada media perlakuan yang menggunakan zat pengatur tumbuh 1L MS, MS + BA tunggal 0,1 dan 0,2 dan MS + BA 0,1 mg/l + kinetin 0,1 mg/l dengan MS + BA 0,2 mg/l + kinetin 0,1 mg/l menghasilkan tunas-tunas yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan MS 0 tanpa zat pengatur tumbuh dan 2 g/l AC. Namun demikian, tunas-tunas yang dihasilkan pada media dengan penambahan 2 g/l AC dan MS 0 tanpa ZPT jauh lebih pendek daripada tunas-tunas tunggal yang dihasilkan pada media dasar menggunakan BA tunggal dan kombinasi.

Menurut Yusnita (2004) dalam perbanyak tanaman *in vitro*, perolehan tunas adventif atau tunas aksilar yang paling banyak karena menggunakan sitokinin pada konsentrasi tertentu tidak berarti yang terbaik, karena seringkali tunas-tunas yang dihasilkan mempunyai internode yang pendek dengan kualitas yang kurang bagus. Dalam percobaan ini, tunas-tunas jati solomon yang pendek hasil dari perlakuan penggunaan 2 g/l AC dan MS 0 tanpa ZPT, dapat tumbuh normal memanjang ketika disubkultur ke media dasar dengan penambahan BA dan kombinasi BA dengan kinetin. George and Klerk (2008) juga membahas, bahwa untuk mengatasi masalah kualitas tunas yang kurang bagus dengan buku-buku yang pendek dapat dilakukan dengan subkultur ke media dengan konsentrasi sitokinin lebih rendah atau ke media dengan penambahan ZPT.

Pada akhir minggu ke 8, tunas yang ditanam pada media 1L MS dari 6 perlakuan yang dicobakan dengan disubkultur ke media MS + 2 g/l AC. Kemudian pada minggu-minggu selanjutnya setelah tanam pada media MS + 2 g/l AC, tunas-tunas pendek hasil 6 perlakuan yang dicobakan menunjukkan pertumbuhan yang normal dengan jarak internode yang awalnya rapat menjadi merenggang sehingga tanaman menjadi tinggi, lebar daun menjadi lebih lebar dan tunas yang berakar panjang. Hal ini

diduga karena media mengandung arang aktif yang memberikan efek gelap sehingga dapat menstimulasi pertumbuhan dan perkembangan akar dan fungsi dari arang aktif sebagai absorben yaitu penyerapan substansi penghambat pertumbuhan yang diproduksi oleh eksplan atau media (Hapsoro dan Yusnita, 2015).

Dalam percobaan yang telah dilakukan bahwa penambahan 2 g/l arang aktif mampu meningkatkan jumlah dan panjang akar, menyebabkan penyerapan air dan nutrisi yang ada pada media menjadi optimal sehingga menghasilkan banyaknya akar primer dan penampilan visual tunas atau tanaman lebih baik dibandingkan tanpa penambahan arang aktif. Kesulitan dalam penggunaan arang aktif pada media kultur adalah selain menyerap senyawa-senyawa yang tidak diinginkan, arang aktif mungkin juga menyerap senyawa-senyawa yang tidak diinginkan, arang aktif mungkin juga menyerap hormon-hormon yang dibutuhkan, vitamin atau ion-ion metal seperti Cu^{+2} dan Zn^{+2} . Penggunaan arang aktif menyebabkan para peneliti tidak dapat memastikan secara tepat kuantitas setiap komponen media yang tersedia bagi tanaman (Thomas, 2008). Constantin (1977) dalam Sanputawong dkk., (2015) menyatakan bahwa kapasitas penyerapan arang aktif menunjukkan pengaruh terhadap komposisi media kultur dalam cara yang selektif, dimana thiamin-HCl dan asam nikotinat dihilangkan dalam media sedangkan inositol dan sukrosa tidak. Meskipun demikian dari berbagai laporan yang telah dipublikasikan sehubungan dengan penggunaan arang aktif dalam kultur jaringan tanaman hasil-hasil penelitian lebih banyak yang berpengaruh positif dibandingkan dengan yang negatif (Thomas, 2008).

Sebagian eksplan yang tidak responsif mengalami pencoklatan (*browning*). Pencoklatan ini terjadi mungkin karena kandungan senyawa fenol pada eksplan cukup tinggi. Sintesis senyawa fenolik dipicu oleh pelukaan pada eksplan yang menyebabkan keluarnya isi sel yang rusak dan menyebabkan kematian dini sel-sel tertentu di sekitar sel yang rusak (Yusnita, 2015). Suyanti dan Supriadi (2008) menyatakan bahwa warna coklat

menandakan sintesis senyawa fenolik yang dipacu oleh cekaman atau gangguan pada sel tanaman. Senyawa ini sangat toksik bagi tanaman dan dapat menghambat pertumbuhan.

Menurut Yusnita (2015), untuk mengurangi pembentukan fenol yang paling umum adalah dengan mentransfer eksplan ke media baru atau subkultur dan pencoklatan pada eksplan dapat diatasi dengan perendaman eksplan dalam larutan antioksidan seperti larutan asam askorbat dan asam sitrat sebelum dilakukan sterilisasi eksplan.

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa semua perlakuan yang dicobakan menyebabkan tunas-tunas yang terbentuk semua membentuk kalus yang sehat dan besar, karena dalam proses pemotongan eksplan dan penanaman eksplan dilakukan dengan steril dan aseptik sehingga menghasilkan kalus-kalus yang sehat baik dari pertumbuhan kalus, warna kalus dan tekstur kalus. Menurut Lakitan (2007), pertumbuhan eksplan pada masing-masing media perlakuan memberikan pengaruh yang berbeda terhadap pertumbuhan kalus, warna, dan tekstur kalus.

Kesimpulan

Berdasarkan percobaan yang telah diujikan, maka didapatkan simpulan sebagai berikut;

1. Pemberian zat pengatur tumbuh BA atau BA dan kinetin menyebabkan peningkatan jumlah buku /tunas secara nyata, sedangkan pemberian arang aktif tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah buku /tunas.
2. Peningkatan konsentrasi BA dari 0,1 – 0,2 mg/l baik tanpa kinetin maupun dengan kinetin menyebabkan penurunan jumlah buku /tunas
3. Jumlah buku /tunas terkecil dihasilkan oleh, yaitu 6,22 buku /tunas pada konsentrasi media MS tanpa ZPT, sedangkan jumlah buku /tunas terbanyak dihasilkan oleh perlakuan media MS ditambahkan dengan 0,1 mg/l BA atau 0,1 mg/l BA dan 0,1 mg/l kinetin, yaitu 7,78 buku /tunas.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, B. 2011. *Prinsip Dasar Teknik Kultur Jaringan*. Alfabeta. Bandung. 123 – 143 hlm.
- Abidin dan Zaenal. 1985. *Dasar-Dasar Tentang Zat Pengatur Tumbuhan*. Bandung. Buku Angkasa. 113 – 118 hlm.
- Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian. 2003. *Perbanyakan Bibit Jati Melalui Kultur Jaringan*. Bogor. Jawa Barat. 78 – 102 hlm.
- George, E.F., M.A. Hall & G.J. De Klerk. 2008. *Plant Propagation by Tissue Culture 3rd Edition*. Springer, Dordrecht, Netherlands: 501p.
- Kasutjianingati. 2004. *Pembiakan mikro berbagai genotipe pisang (Musa spp.) dan potensi bakteri endofitik terhadap layu fusarium (Fusarium oxysporum f.sp. cubense)*. (Tesis). Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Lakitan, B. 2007. *Dasar-dasar Fisiologi Tumbuhan*. Raja Grafindo Persada. Jakarta. 244 hlm.
- Lina, F.R., E. Ratnasari., dan R. Wahyono. 2013. *Pengaruh 6-benzylamino purine (BAP) dan 6-furfuryl amino purine (Kinetin) pada Media MS terhadap Pertumbuhan Eksplan Ujung Apikal Tanaman Jati secara In Vitro*. Jurnal: Universitas Negeri Surabaya.
- Murashige T. dan F. Skoog. 1962. *A revised medium for rapid growth and bio assay with tobacco tissue culture*. Jurnal Department Botany. University of Wisconsin. Wisconsin. 473-497p.
- Rahardja, P.C. 1994. *Kultur Jaringan. Teknik Perbanyakan Tanaman Secara modern*. Buku Penebar Swadaya. Jakarta. 143 – 151 hlm.

- Rusyadi. 2000. *Multiplikasi Tunas Tanaman Melinjo Melalui Kulturin vitro*. Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian. Bogor.
- Salisbury, F. B., dan C. W. Ross. 1995. *Fisiologi Tumbuhan Jilid 3*. Bandung: Penerbit ITB. 335p.
- Sandra, E. 2013. *Cara Mudah Memahami dan Menguasai Kultur Jaringan*. IPB Press. Bogor.
- Sanputawong, S., T. Raknim, and S. Benchasri. 2015. *Influence of Different Type of Culture Media and Activated Charcoal on Callus Induction and Shoot Multiplication of Cadaminelyrata*. Journal of Agricultural Technology 11(8): 1697-1704.
- Sugi, P, Pujo. S, Hesti. D. S, dan Cahyo. S. 2015. *Budidaya dan Bisnis Kayu Jati*. Buku Penebar Swadaya. Jakarta. 107 hlm.
- Suhartati, dan Nursyamsi. 2007. *Pengaruh komposisi media WPM dan BAP pada pertumbuhan bibit jati (Tectona grandis) dengan perbanyak secara invitro*. Info Hutan 4(4): 379-384.
- Sulistiani, E dan Ahmad, Y.S. 2012. *Produksi Bibit Tanaman dengan menggunakan Teknik Kultur Jaringan*. Bogor: Seameo biotrop (southeast asian centre for tropical biology).
- Suyanti dan A. Supriadi. 2008. *Pisang, Budidaya, Pemasaran dan Prospek Pasar*. Buku Penebar Swadaya. Jakarta. 128 hlm.
- Thomas, T. D. 2008. *The Role of Activated Charcoal in Plant Tissue Culture*. *Biotechnology Advances*. 26:618-631.
- Wattimena, G. A. 1998. *Zat PengaturTumbuh Tanaman*. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 143 hlm.
- Yusnita. 1990. "Micropropagation of White Flowering Eastern Redbud (*Cercis canadensis* L. Var. Alba)", *Thesis Master of Science*, University of Kentucky, Lexington, USA.
- Yusnita. 2003. *Kultur Jaringan Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien*. Buku Agromedia Pustaka. Jakarta. 105 hlm.
- Yusnita dan D. Hapsoro. 2002. *Teknik Kultur Jaringan untuk Pembiakan Tanaman. Makalah training kultur jaringan*. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 10-21 hlm.
- Yusnita., W. Pungkastiani, dan D. Hapsoro. 2011. *In Vitro Organogenesis of Two Sansevieria Cultivars on Different Concentrations of Benzlyadenine*. *Agrivita* 33 : 147 – 153.
- Yusnita, 2015. *Kultur Jaringan Tanaman Sebagai Teknik Penting Bioteknologi Untuk Menunjang Pembangunan Pertanian*. Orasi Ilmiah Guru Besar Bioteknologi Pertanian Universitas Lampung. Aura Publishing. Lampung. 23-54 hlm.