

TNH  
1994  
0128

PENGARUH KOMBINASI BAP dan KINETIN  
TERHADAP PERTUMBUHAN DAN PERKEMBANGAN TUNAS PUCUK  
*Heliconia psittacorum* cv. Frosty Orange

SECARA IN VITRO



Oleh

E V Y

A 26.1342



JURUSAN BUDIDAYA PERTANIAN  
FAKULTAS PERTANIAN  
INSTITUT PERTANIAN BOGOR

1994

RINGKASAN

E. V. Y. Pengaruh Kombinasi BAP dan Kinetin Terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Tunas Pucuk *Heliconia psittacorum* cv. Frosty Orange Secara In vitro.

(Di bawah bimbingan LIVY WINATA GUNAWAN)

Tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari pengaruh kombinasi antara zat pengatur tumbuh BAP dan Kinetin dalam berbagai taraf konsentrasi terhadap pertumbuhan dan perkembangan tunas pucuk *Heliconia psittacorum* cv. Frosty Orange secara in vitro.

Penelitian ini merupakan percobaan faktorial dengan dasar Rancangan Acak Lengkap, dengan dua faktor yaitu konsentrasi BAP (2 mg/l, 4 mg/l dan 8 mg/l) dan Kinetin (2 mg/l, 4mg/l dan 8 mg/l).

Eksplan yang digunakan adalah tunas anakan *Heliconia psittacorum* yang dikulturkan pada media Murashige & Skoog, dengan ulangan 9 - 12 per perlakuan.

Pada percobaan ini diamati adanya kontaminasi dimana persentase kontaminasi semakin meningkat setiap kali dilakukan subkultur yaitu 1.01% (7 minggu setelah tanam), 21.47% (14 minggu setelah tanam) dan 35.49% (20 minggu setelah tanam).

Hasil percobaan menunjukkan kombinasi perlakuan BAP 4 mg/l dan Kinetin 4 mg/l merupakan perlakuan terbaik untuk menumbuhkan tunas pucuk *Heliconia* (90.00%), sedangkan

kombinasi perlakuan BAP 2 mg/l dan Kinetin 2 mg/l merupakan perlakuan terbaik untuk multiplikasi tunas dengan hasil sebesar 33.33%. Persentase eksplan yang mengalami multiplikasi cenderung menurun dengan bertambahnya konsentrasi sitokinin. Persentase hasil yang terendah didapatkan pada kombinasi perlakuan BAP 2 mg/l dan Kinetin 4 mg/l serta kombinasi perlakuan BAP 8 mg/l dan Kinetin 8 mg/l yaitu 0.00%.

Eksplan yang dipindahkan ke dalam kombinasi perlakuan BAP 2 mg/l dan Kinetin 2 mg/l adalah eksplan yang masih dalam keadaan baik, dan umumnya mengalami pertambahan jumlah tunas, jumlah daun dan pertambahan tinggi. Pemilihan kombinasi perlakuan BAP 2 mg/l dan Kinetin 2 mg/l karena kombinasi perlakuan ini pada minggu ke-1 sampai minggu ke-20 menghasilkan persentase multiplikasi tertinggi (33.33%).

Pencoklatan semakin meningkat dengan bertambahnya minggu yaitu 0.00% (7 minggu setelah tanam), 21.59% (14 minggu setelah tanam) dan 49.58% (20 minggu setelah tanam), dengan kecenderungan semakin tinggi sitokinin persentase eksplan yang mengalami pencoklatan juga semakin meningkat.

Pengakaran dilakukan pada media Murashige & Skoog dengan penambahan IBA 5 mg/l. Hasil percobaan menunjukkan hanya 1 dari 8 kultur yang diakarkan yang mampu menghasilkan akar.



PENGARUH KOMBINASI BAP dan KINETIN  
TERHADAP PERTUMBUHAN DAN PERKEMBANGAN TUNAS PUCUK  
*Heliconia psittacorum* cv. Frosty Orange

SECARA IN VITRO

Laporan Karya Ilmiah  
Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh  
Gelar Sarjana Pertanian Pada Fakultas Pertanian  
Institut Pertanian Bogor

Oleh

E V Y

A 26.1342

JURUSAN BUDIDAYA PERTANIAN  
FAKULTAS PERTANIAN  
INSTITUT PERTANIAN BOGOR

1994



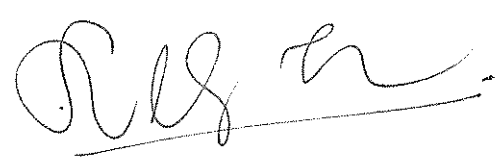
Judul : PENGARUH KOMBINASI BAP dan KINETIN  
TERHADAP PERTUMBUHAN DAN PERKEMBANGAN  
TUNAS PUCUK *Heliconia psittacorum* cv.  
Frosty Orange SECARA IN VITRO

Nama Mahasiswa : E V Y

Nomor Pokok : A 26.1342

Menyetujui

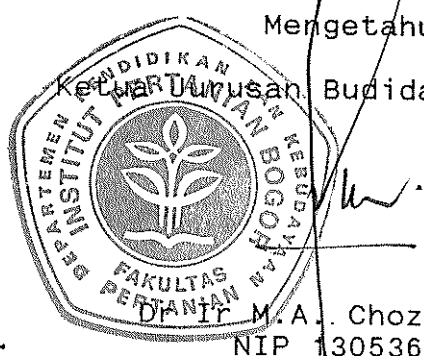
Dosen Pembimbing



Dr Livi Winata Gunawan  
NIP 130516353

Mengetahui

Ketua Jurusan Budidaya Pertanian



M.A. Chozin, MAgr  
NIP 130536690

Tanggal Lulus: 17 JAN 1994

## RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Bogor, Jawa Barat pada tanggal 6 Oktober 1970. Penulis merupakan anak pertama dari lima bersaudara, pasangan keluarga Winarta Mukti dan Maria Pia Sianita Wisnu.

Penulis lulus dari SD Katolik Mardi Yuana Cibinong pada tahun 1983, dan melanjutkan ke SMP Katolik Regina Pacis Bogor. Setelah lulus tahun 1986, penulis melanjutkan ke sekolah yang sama, yaitu SMA Regina Pacis Bogor dan berhasil lulus tahun 1989. Pada tahun yang sama penulis diterima sebagai Mahasiswa Tingkat Persiapan Bersama, Institut Pertanian Bogor melalui jalur Undangan Seleksi Masuk IPB (USMI). Setahun kemudian yaitu tahun 1990, penulis diterima di Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, dan mengambil program studi Agronomi. Selanjutnya penulis mengambil program studi kekhususan Hortikultura.



## KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadapan Tuhan Yang Maha Pengasih dan Penyayang atas segala karunia dan bimbingan-Nya, sehingga penulis berhasil menyelesaikan Laporan Karya Ilmiah ini.

Laporan ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Pertanian pada Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu Dr Livy Winata Gunawan atas segala saran dan bimbingannya dalam menyelesaikan laporan ini.
2. Ibu Kerst yang telah menyediakan bahan tanaman untuk digunakan sebagai eksplan dalam penelitian karya ilmiah ini.
3. Ibu Ir Andri Ernawati, MSc. dan Bapak Ir Agus Poerwito, MSc. atas segala kritik dan sarannya dalam menyempurnakan laporan ini.
4. Mamah, Papah, adik-adikku dan Joshua atas segala dorongan dan bantuannya dalam penyelesaian laporan ini.
5. Seluruh staf dan karyawan Laboratorium Kultur Jaringan IPB, yang telah banyak membantu selama berlangsungnya penelitian ini.



6. Teman-teman di Laboratorium Kultur Jaringan atas bantuan dan kerja samanya selama penelitian berlangsung.
7. Semua pihak yang telah membantu terselesaikannya Laporan Karya Ilmiah ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Akhir kata penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun, dan semoga tulisan ini dapat bermanfaat bagi yang memerlukannya.

Bogor, Oktober 1993

Penulis





## DAFTAR ISI

|  | Halaman |
|--|---------|
| KATA PENGANTAR.....                                | i       |
| DAFTAR ISI.....                                    | iii     |
| Daftar Tabel.....                                  | v       |
| Daftar Gambar.....                                 | vi      |
| PENDAHULUAN.....                                   | 1       |
| Latar belakang.....                                | 1       |
| Tujuan.....  | 2       |
| Hipotesa.....                                      | 2       |
| TINJAUAN PUSTAKA.....                              | 4       |
| Botani H. <i>psittacorum</i> cv Frosty Orange..... | 4       |
| Tehnik Kultur Jaringan.....                        | 6       |
| Tahapan Kerja Kultur Jaringan.....                 | 7       |
| Medium Kultur Jaringan.....                        | 8       |
| Lingkungan Kultur Jaringan.....                    | 10      |
| Eksplan Tanaman.....                               | 11      |
| Zat Pengatur Tumbuh.....                           | 12      |
| Kultur Jaringan Heliconia.....                     | 13      |
| BAHAN DAN METODA.....                              | 15      |
| Tempat dan Waktu Penelitian.....                   | 15      |
| Bahan dan Alat.....                                | 15      |
| Metoda Penelitian.....                             | 16      |
| Pelaksanaan Penelitian.....                        | 16      |

|                           | Halaman |
|---------------------------|---------|
| HASIL DAN PEMBAHASAN..... | 21      |
| Keadaan Umum Kultur.....  | 21      |
| Pertumbuhan Tunas.....    | 25      |
| Multiplikasi.....         | 28      |
| Pencoklatan.....          | 35      |
| Pengakaran.....           | 37      |
| KESIMPULAN DAN SARAN..... | 39      |
| DAFTAR PUSTAKA.....       | 40      |
| LAMPIRAN.....             | 43      |

## DAFTAR TABEL

### Teks

| Nomor |   | Halaman |
|-------|---|---------|
| 1.    | Persentase eksplan yang mengalami kontaminasi pada 20 minggu setelah tanam.....   | 24      |
| 2.    | Persentase eksplan yang tumbuh pada 20 minggu setelah tanam.....  | 27      |
| 3.    | Persentase eksplan yang mengalami multiplikasi pada 20 minggu setelah tanam.....  | 30      |
| 4.    | Jumlah tunas, jumlah daun dan pertambahan tinggi pada subkultur III (28 minggu setelah tanam)..<br>.....  | 34      |
| 5.    | Jumlah tunas, daun dan pertambahan tinggi pada eksplan yang dipindahkan ke perlakuan BAP 2 mg/l dan Kinetin 2 mg/l (28 minggu setelah tanam)..<br>..... | 34      |
| 6.    | Persentase eksplan yang mengalami pencoklatan pada pada 20 minggu setelah tanam.....  | 36      |
| 7.    | Jumlah akar yang dihasilkan pada tahap pengakaran (34 minggu setelah tanam).....  | 38      |

### Lampiran

|    |   |    |
|----|---|----|
| 1. | Komposisi media Murashige Skoog (MS)..... | 43 |
|----|---|----|

Hal. 5 dari 5 | Institut Pertanian Bogor  
 1. Diakses melalui alamat: [www.ipb.ac.id](http://www.ipb.ac.id)  
 2. Diakses melalui alamat: [www.ipb.ac.id](http://www.ipb.ac.id)  
 3. Diakses melalui alamat: [www.ipb.ac.id](http://www.ipb.ac.id)  
 4. Diakses melalui alamat: [www.ipb.ac.id](http://www.ipb.ac.id)  
 5. Diakses melalui alamat: [www.ipb.ac.id](http://www.ipb.ac.id)  
 6. Diakses melalui alamat: [www.ipb.ac.id](http://www.ipb.ac.id)  
 7. Diakses melalui alamat: [www.ipb.ac.id](http://www.ipb.ac.id)  
 8. Diakses melalui alamat: [www.ipb.ac.id](http://www.ipb.ac.id)  
 9. Diakses melalui alamat: [www.ipb.ac.id](http://www.ipb.ac.id)  
 10. Diakses melalui alamat: [www.ipb.ac.id](http://www.ipb.ac.id)



## DAFTAR GAMBAR

### Teks

| Nomor | Teks   | Halaman |
|-------|--|---------|
| 1.    | <i>Heliconia psittacorum</i> cv. Frosty Orange.....  | 5       |
| 2.    | Eksplan yang hidup, tampak pada gambar eksplan yang hidup berwarna hijau segar.....  | 22      |
| 3.    | Eksplan yang mengalami pemecahan dormansi dengan tanda-tanda pangkal tunas membesar diikuti oleh pecahnya ujung tunas.....                             | 26      |
| 4.    | Eksplan yang mengalami multiplikasi (ditunjukkan oleh anak panah). Tampak pada gambar pangkal tunas membengkak.....                                    | 29      |
| 5.    | Eksplan yang mengalami pemanjangan tunas, tampak pada gambar ujung tunas memanjang setelah itu dari pangkal tunas akan keluar tunas lateral..<br>..... | 32      |
| 6.    | Eksplan dari berbagai perlakuan yang dalam keadaan baik dan dimasukkan ke dalam perlakuan BAP 2 mg/l dan Kinetin 2 mg/l.....                           | 33      |
| 7.    | Eksplan dalam perlakuan BAP 2 mg/l dan Kinetin 2 mg/l yang telah mengalami multiplikasi pada subkultur III.....  | 35      |
| 8.    | Eksplan yang mengalami pencoklatan (A) dan eksplan yang segar berwarna hijau (B).....  | 37      |

## PENDAHULUAN

### Latar Belakang

Heliconia merupakan tanaman hias yang mulai populer di Indonesia sejak tahun 1980-an. Sebagian besar Heliconia berasal dari daerah Amerika tengah dan selatan, Asia dan Barat Pasifik, yang rata-rata beriklim tropis (Kepler, 1989; Donselman and Broschat, 1986). Karena berasal dari daerah tropis yang memiliki ciri-ciri iklim sama dengan Indonesia yaitu mempunyai kelembaban dan intensitas matahari tinggi, maka Heliconia dapat dikembangkan dengan baik di Indonesia.

Heliconia banyak disukai karena karakteristik bunganya yang indah dan mengagumkan, dengan berbagai warna dan bentuk yang indah. Selain itu pemeliharaannya relatif mudah. Oleh karena itu Heliconia sangat potensial untuk dijadikan elemen taman ataupun untuk bunga potong.

Pengembangbiakan Heliconia secara alami mengandalkan anakan atau rimpang dimana dalam 1 tahun hanya dapat dihasilkan lebih kurang 3 - 4 anakan, bahkan untuk jenis tertentu hanya dapat menghasilkan 1 anakan pertahun. Cara ini tidak dapat menghasilkan jumlah anakan yang besar dalam waktu yang singkat.

Adanya permintaan yang besar memerlukan usaha pengembangan bibit dalam yang jumlah besar pula, serta dapat tersedia dalam waktu yang singkat. Hal ini sulit di-

penuhi bila hanya mengandalkan perbanyakan secara vegetatif alami.

Metode In vitro adalah salah satu alternatif yang dapat diambil untuk memecahkan masalah di atas, dimana tehnik In vitro telah diakui sebagai metode baru dalam perbanyakan tanaman. Tehnik In vitro secara umum dapat diartikan sebagai usaha menumbuhkan bagian tanaman pada media aseptik dan kondisi aseptik serta memperbanyaknya, sehingga menghasilkan tanaman yang sempurna.

Penelitian pendahuluan mengenai kultur jaringan *Heliconia* telah dilakukan. Media yang digunakan adalah media Murashige & Skoog dengan penambahan BAP, namun hasil yang diperoleh belum memuaskan karena persentase pertumbuhan tunas yang rendah.

### Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh kombinasi antara zat pengatur tumbuh BAP dengan Kinetin dalam berbagai taraf konsentrasi terhadap pertumbuhan dan perkembangan tunas pucuk *Heliconia psittacorum* cv. Frosty Orange secara In vitro, guna mendapatkan bibit tanaman dengan jumlah yang banyak dan seragam dalam waktu yang singkat.

### Hipotesa

1. Kombinasi BAP dengan Kinetin dalam berbagai taraf konsentrasi akan memberikan pengaruh yang berbeda dalam

mendorong pertumbuhan dan perkembangan tunas pucuk *Heliconia psittacorum* cv. Frosty Orange.

2. Kombinasi BAP dengan Kinetin dalam kisaran 2 - 8 mg/l akan menghasilkan suatu taraf kombinasi yang terbaik dalam menumbuhkan tunas pucuk *Heliconia psittacorum* cv. Frosty Orange.



## TINJAUAN PUSTAKA

### Botani *Heliconia psittacorum* cv. Frosty Orange

*Heliconia* termasuk dalam famili Heliconiaceae. Pemisahan *Heliconia* dari famili Musaceae disebabkan, *Heliconia* tidak menghasilkan buah seperti pisang pada umumnya. Secara alami *Heliconia* terdiri dari 250 - 400 species, dimana 98% mempunyai habitat asli di daerah tropis Amerika (Kepler , 1989).

*Heliconia* mempunyai seludang bunga yang sangat menarik, karena banyak variasi dalam warna. Malai bunga mempunyai sepal terbuka, kadang-kadang sepalnya bergabung dengan corollanya yang berbentuk pipa pendek. Jumlah stamennya lima buah dan kotak sarinya berjumlah tiga buah (Umarna dan Sansan, 1991).

Dilihat dari malai bunganya *Heliconia* dapat dibedakan menjadi dua, yaitu *Heliconia* dengan malai bunga tegak atau 'erect' dan *Heliconia* dengan malai bunga menggantung atau 'pendent' (Donselman and Broschat, 1986). Selanjutnya menurut Kepler (1989) tipe malai bunga tegak dibagi lagi menjadi tiga ukuran, yaitu besar, sedang dan kecil.

*Heliconia psittacorum* cv. Frosty Orange merupakan species *Heliconia* yang memiliki daya pesona tersendiri. Mempunyai malai bunga tegak. Seludang bunganya berjumlah antara 3 - 5, berwarna orange dengan bagian luar tertutup lapisan lilin putih yang tipis. Bunganya berwarna orange

dengan bercak hitam pada bagian atas dan ujungnya berbintik orange (Gambar 1). Perbedaan panjang seludang bunga dengan bunga tidak mencolok. *Heliconia* jenis ini sangat berpotensi sebagai bunga potong dan juga cocok untuk dipakai sebagai salah satu elemen taman. Tinggi tanaman antara 1 - 1.5 m (Haryani , 1993).



Gambar 1. *Heliconia psittacorum* cv. Frosty Orange

Secara alami *Heliconia psittacorum* cv. Frosty Orange berkembang biak dengan menggunakan rimpang dimana dihasilkan 3 - 4 anakan pertahun. Perbanyakannya secara alami ini mempunyai kelemahan, yaitu: (1) waktunya panjang, (2) jumlah bibit yang dihasilkan sedikit, (3) propagula vegetatif memungkinkan meluasnya patogen yang sangat nyata dalam menurunkan produksi (Gupta, 1986).

## Teknik Kultur Jaringan

Kultur jaringan sekarang ini sudah diakui sebagai metode baru dalam memperbanyak tanaman secara besar-besaran. Kultur jaringan didefinisikan sebagai suatu metode untuk mengisolasi bagian dari tanaman, seperti protoplasma, sel, sekelompok sel, jaringan dan organ, serta menumbuhkannya dalam kondisi aseptik, sehingga bagian-bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman lengkap (Gunawan, 1988).

Prinsip dasar dari kultur jaringan adalah mengikuti teori sel yang dikemukakan oleh Schleiden dan Schwann yang dinamakan totipotensi, dimana secara teoritis tiap-tiap sel akan mampu tumbuh menjadi tanaman yang sempurna, bila ditumbuhkan di lingkungan yang sesuai (Hussey, 1978). Totipotensi menurut Hudson (1983) adalah kemampuan tiap sel untuk menjadi tanaman lengkap, karena mengandung informasi genetik yang sama dengan induknya. Namun tidak semua sel dalam tumbuhan dewasa mempunyai sifat totipotensi, karena banyak sel seperti trakeid, serat dan sel-sel pembuluh tidak mempunyai sitoplasma dan nukleus (Noggle & Fritz, 1979). Sedangkan konsep untuk menumbuhkan tanaman dari satu sel individu pertama kali dikemukakan oleh Haberland pada tahun 1898, yang berusaha menumbuhkan tanaman di dalam larutan mineral (Drew, 1980).

Menurut Hartmann dan Kester (1983) penggunaan teknik kultur jaringan ditujukan untuk (1) memperbanyak tanaman

secara cepat, (2) mendapatkan tanaman bebas patogen, (3) menghasilkan produk-produk sekunder, (4) memperbaiki sifat-sifat genetik tanaman dalam pemuliaan tanaman.

Pada prinsipnya perbanyakan melalui kultur jaringan diperlakukan untuk tanaman yang (1) persentase perkecambahan bijinya rendah, (2) hibrida-hibrida yang unik dan berasal dari tetua yang tidak menunjukkan 'male sterility', (3) selalu diperbanyak secara vegetatif seperti pada kentang, pisang dan heliconia.

Kultur jaringan mempunyai beberapa keuntungan dan kerugian. Keuntungan yang diperoleh antara lain kecepatan perbanyakan yang jauh lebih tinggi dari metode konvensional, tidak tergantung pada musim (untuk daerah subtropis), tidak memerlukan daerah pembibitan yang luas, tidak merusak tanaman induk dan dapat mengeliminasi patogen (Gunawan, 1988). Sedangkan kerugian yang didapat antara lain fasilitas yang diperlukan membutuhkan dana yang besar, memerlukan tenaga ahli dan selalu ada kemungkinan kontaminasi (Hartmann & Kester, 1983).

### Tahapan Kerja Dalam Kultur Jaringan

Menurut Murashige dalam Wethrell (1982) dan Drew (1980), langkah-langkah perbanyakan kultur jaringan dikelompokkan menjadi tiga, yaitu:

1. Fase inisiasi, pada fase ini bahan tanaman yang di-sterilisasi diharapkan bebas dari mikro organisme





Zn, B, Cu dan Mo yang merupakan komponen penting untuk kegiatan metabolisme dan fisiologi tanaman (George & Sherrington, 1984). Menurut Gamborg dan Shyluk (1981) unsur Co dan I dapat juga ditambahkan, tetapi bukan merupakan suatu keharusan.

Senyawa organik yang digunakan antara lain adalah gula, vitamin, zat pengatur tumbuh dan agar. Menurut Gunawan (1988), gula digunakan untuk menggantikan karbon yang biasa didapat dari atmosfer melalui fotosintesis. Agar dipakai untuk membuat kontak antara jaringan tanaman dengan media dan udara (Wetherell, 1982). Murashige (1977) menekankan perlunya perimbangan tertentu dalam pencampuran hara, gula, vitamin dan zat pengatur tumbuh. Perimbangan yang tepat dari senyawa-senyawa tersebut sangat penting dan akan menentukan tipe pertumbuhan tanaman yang akan terjadi.

Menurut Pierik (1987), pH media sebaiknya berkisar antara 5 - 6.5 dan untuk pertumbuhan optimum sekitar 6, karena pH yang terlalu rendah dan terlalu tinggi, akan menghambat pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Kemasaan yang terlalu rendah akan berakibat: (1) auksin, gibberelin, vitamin B<sup>1</sup> dan asam pantotenat menjadi kurang stabil, (2) agar-agar menjadi lembek, (3) garam-garam besi dan fosfat akan mengendap, (4) penyerapan ion amonium menjadi terhambat. Pengaturan pH dilakukan dengan penam-

bahan larutan NaOH atau KOH 1.0 N dan HCl 1.0 N untuk menaikkan dan menurunkan pH.

Media Murashige & Skoog merupakan media yang paling banyak digunakan untuk berbagai tujuan kultur, karena walaupun pertamakali dibuat untuk kultur kalus tembakau, tetapi komposisi media Murashige & Skoog ini pada umumnya mendukung kultur jaringan tanaman lain. Komposisi media beserta perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel Lampiran 1.

### Lingkungan Kultur Jaringan

Seperti halnya tanaman di lapang, pertumbuhan eksplan yang dikembangkan secara *in vitro* juga dipengaruhi oleh faktor lingkungan di sekitarnya, yaitu cahaya, suhu dan atmosfer ruang kultur (Murashige, 1977).

Pengaruh cahaya dapat dikelompokkan dalam tiga bagian, yaitu panjang penyinaran, kualitas dan intensitas cahaya. Dari hasil penelitian, umumnya cahaya dapat memperbaiki pertumbuhan eksplan, karena dapat dihasilkan tanaman hijau dan berdaun normal. Selain itu, cahaya juga berperan dalam proses diferensiasi jaringan. Untuk intensitas cahaya, umumnya digunakan 1000 - 1500 lux selama 12 - 16 jam perhari. Intensitas cahaya optimum yang dibutuhkan oleh berbagai kultur jaringan berbeda-beda, tergantung pada taraf perkembangbiakan eksplan, tipe eksplan yang digunakan dan species tanaman yang dikulturkan (Eco-



nomou & Read, 1987). Eksplan dapat juga diletakkan di tempat gelap jika diinginkan pembentukan kalus yang banyak, sedangkan untuk permulaan pembentukan akar dan tunas dibutuhkan cahaya dengan intensitas rendah, yaitu lebih kurang 1000 lux selama 16 jam setiap hari (Murashige, 1987). Menurut Pierik (1987), hanya sedikit yang diketahui tentang pengaruh panjang hari pada kultur jaringan. Panjang hari optimum berkisar antara 14 - 16 jam perhari.

Suhu ruang kultur umumnya tetap sepanjang siang dan malam, yaitu antara 17 - 32<sup>0</sup>C, tetapi umumnya mempunyai suhu rata-rata 25<sup>0</sup>C. Suhu juga dapat mempengaruhi kecepatan pertumbuhan pada tanaman yang ditanam secara in vitro (George & Sherington, 1984).

### Eksplan Tanaman

Salah satu faktor yang menentukan keberhasilan kultur jaringan adalah pemilihan bahan eksplan yang akan digunakan (George & Sherington, 1984). Menurut Gunawan (1988) pada prinsipnya semua bagian tanaman dapat diambil sebagai eksplan, namun sebaiknya dipilih bagian-bagian yang belum berdiferensiasi, seperti sel-sel meristematik. Ada beberapa hal yang harus diperhatikan dalam memilih eksplan, diantaranya sumber eksplan, ukuran dan umur fisiologis eksplan.

Yeoman & Maclead (1977) menyatakan, secara umum eksplan yang berukuran lebih besar lebih menguntungkan, ka-



rena jumlah selnya lebih banyak, sehingga kemungkinan berhasilnya lebih besar. Eksplan yang lebih besar juga semakin mudah bereaksi terhadap rangsangan karena cadangan makanan dan hormon yang tersedia dalam tanaman relatif lebih banyak jumlahnya (Pierik, 1987). Tapi menurut Murashige (1977) eksplan yang besar lebih memungkinkan terjadinya aberasi genetik, juga lebih mudah terkontaminasi (Drew, 1980). Sedangkan eksplan yang berukuran kecil mempunyai persentase kematian yang lebih tinggi dibandingkan eksplan yang lebih besar.

#### Zat Pengatur Tumbuh

Zat pengatur tumbuh adalah zat-zat yang mengawali reaksi-reaksi biokimia dan mengubah komposisi kimia di dalam tanaman, sehingga terjadilah pembentukan organ-organ tanaman seperti akar, tunas, daun, bunga (Wattimena, 1987). Menurut Drew (1980), zat pengatur tumbuh adalah salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan eksplan. Zat pengatur tumbuh akan mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis dalam kultur sel, jaringan dan organ (Gunawan, 1988).

Dalam kultur jaringan, zat pengatur tumbuh yang penting adalah golongan auksin dan sitokinin. Golongan sitokinin adalah turunan adenin. Sitokinin sangat penting dalam pengaturan, pembelahan sel dan morfogenesis (Gunawan, 1988). Penggunaan sitokinin dalam medium kultur ja-

RNA dan protein dalam sel (Szweykowska, 1974). Golongan sitokinin yang banyak dipakai adalah 6-Benzyl amino purine atau BAP dan 6-furfuryl amino purine atau Kinetin.

Kinetin dan BAP adalah dua sitokinin yang banyak digunakan, karena mempunyai aktivitas sitokinin yang tinggi dan murah (George & Sherington, 1984). Menurut Hartmann & Kester (1983), Adenine berinteraksi sinergis dengan sitokinin.

Auksin adalah golongan zat pengatur tumbuh yang berfungsi dalam pemanjangan dan pertumbuhan sel (George & Sherington, 1984). Interaksi dan perbandingan antara auksin dengan sitokinin dalam medium dan yang diproduksi secara endogen oleh tanaman, menentukan arah perkembangan kultur yang ditanam. Dalam kultur pucuk adalah sangat penting menggunakan konsentrasi sitokinin yang relatif lebih tinggi dari auksin (Gunawan, 1988).

#### Kultur Jaringan *Heliconia*

Nathan et al (1992) telah mengadakan penelitian tentang kultur jaringan *Heliconia psittacorum*, dimana eksplan berasal dari rimpang yang sedang berkembang dalam tanah. Rimpang setelah disterilisasi ditanam dalam media Murashige & Skoog dengan penambahan Thiamine 0.5 mg/l, myoinositol 100 mg/l, sodium hidrogen fosfat 170 mg/l, adenine sulfat 80 mg/l, sukrosa 30 g/l dan gelrite 2 g/l. Sebagai perlakuan ditambahkan air kelapa 150 ml/l, IAA





## BAHAN DAN METODA

### Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman, Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Penelitian ini dilakukan dari bulan Februari - November 1993.

### Bahan Dan Alat

Bahan tanaman yang digunakan adalah tunas anakan *Heliconia psittacorum* cv. Frosty Orange yang berumur kurang lebih 1 - 2 bulan. Ukuran tunas waktu diambil dari induknya mempunyai tinggi 5 - 7 cm dan berdiameter pangkal antara 0.5 - 1 cm. Tunas diambil dari bonggol yang sehat dan subur. Tunas yang diambil masih berada di dalam tanah dan berwarna hijau segar.

Media kultur yang digunakan adalah media Murashige & Skoog (Tabel Lampiran 1) dengan tambahan myoinositol, vitamin, glycine, sukrosa dan zat pengatur tumbuh BAP, Kinetin dan NAA. Sebagai bahan pematik digunakan agar - agar.

Bahan untuk sterilisasi eksplan adalah detergen, Benlate, Agrimycin 40 WP, HgCl<sub>2</sub>, Clorox dengan bahan aktif NaOHCl, Kanamycin, Betadine dan aquades steril. Bahan lainnya adalah NaOH atau KOH, HCl, alkohol 70%, spiritus, aluminium foil, kertas saring dan kertas tissue.



Alat-alat yang digunakan botol-botol media, erlenmeyer, gelas piala, pipet volumetrik, pipet biasa, cawan petri, pisau, scalpel, pinset, lampu spiritus, 'laminar air flow cabinet', neraca analitik, neraca kasar, pH meter, autoclave, pembakar bunsen, sprayer, rak tempat botol kultur dan alat bantu lainnya.

### Metoda Penelitian

Pada percobaan ini dipelajari pengaruh interaksi dua sitokinin yaitu BAP (B) dan Kinetin (K) pada berbagai taraf. Percobaan yang dilakukan adalah percobaan faktorial dengan dasar rancangan acak lengkap dengan setiap perlakuan diulang 9 - 12 kali. Faktor BAP yang digunakan terdiri dari 3 taraf, yaitu 2 mg/l ( $B_2$ ), 4 mg/l ( $B_4$ ) dan 8 mg/l ( $B_8$ ), sedangkan taraf Kinetin yang digunakan adalah 2 mg/l ( $K_2$ ), 4 mg/l ( $K_4$ ) dan 8 mg/l ( $K_8$ ). NAA yang digunakan pada saat inisiasi dan multiplikasi hanya terdiri dari satu taraf yaitu 0.2 mg/l, sedangkan untuk media pengakaran dipakai media Murashige & Skoog dengan penambahan zat pengatur tumbuh IBA 5 mg/l.

### Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini meliputi beberapa tahap pekerjaan yang dilakukan secara berurutan. Tahap pekerjaan tersebut meliputi:



## Sterilisasi Botol dan Alat Tanam

Botol dan alat yang akan digunakan untuk pembuatan media dan penanaman dicuci bersih, kemudian disterilkan dalam otoklaf pada temperatur  $121^{\circ}\text{C}$  dengan tekanan 17.5 psi selama 1 jam. Perhitungan waktu dimulai setelah tekanan yang diinginkan tercapai. Alat tanam yang perlu disterilkan adalah pinset, gagang scalpel, cawan petri dan aquades.

## Pembuatan Media

Media yang dibuat dengan memipet larutan stok garam-garam mineral, asam amino, vitamin ke dalam labu takar. Untuk media perlakuan ditambahkan pula zat pengatur tumbuh. Media dasar yang digunakan adalah media Murashige & Skoog dengan sukrosa 30 g/l untuk tahap inisiasi, subkultur pertama dan pengakaran. Sedangkan untuk subkultur kedua dan tahap multiplikasi digunakan sukrosa 45 g/l.

Kemasaman media diukur dengan pH-meter dan diatur pH-nya sehingga mencapai 5.9 - 6.0 dengan penambahan KOH atau NaOH dan HCl untuk menaikkan dan menurunkan pH. Media yang telah diatur pH-nya ditambahkan agar 7 g/l, kemudian dimasak sampai mendidih dan dituang ke dalam botol- botol kultur yang telah disterilisasi. Botol kultur ditutup dengan aluminium foil, lalu diotoklaf pada tekanan 17.5 psi selama 30 menit. Setelah itu media disimpan dalam ruang gelap dan steril, dibiarkan 3 - 7 hari sebelum digunakan.



## Sterilisasi Bahan Tanaman

Sterilisasi bahan tanaman dilakukan dalam dua tahap, yaitu sterilisasi di dalam dan di luar 'laminar air flow cabinet'. Sterilisasi di luar laminar dilakukan dengan menggunakan larutan detergen, Benlate 2 g/l, Agrymicin 2 g/l. Bahan tanaman dari lapang mula-mula dibersihkan dari kotoran dengan menggunakan larutan detergen, kemudian dibilas dengan air bersih. Bahan tanaman dibalur dengan pasta yang terbuat dari campuran Benlate dan Agrymicin, sehingga seluruh permukaannya tertutup dan dibiarkan selama 12 jam. Kemudian bahan tanaman tersebut dimasukkan ke dalam laminar, direndam dalam clorox 50% selama 15 menit, lalu dibilas air bersih, kemudian pelepah terluar dikupas. Bahan tanaman yang telah dikupas tersebut dimasukkan ke dalam clorox 10% selama lebih kurang 5 menit dan dibilas dengan air steril. Pelepah luarnya dikupas lagi, lalu dimasukkan ke dalam  $HgCl_2$  selama 5 menit, dibilas air steril. Setelah itu sekali lagi pelepah terluarnya dikupas, dipotong sampai tersisa dua ruas sehingga didapat tunas yang akan digunakan sebagai eksplan setinggi 1.5 - 3.0 cm. Sebelum ditanam eksplan direndam dahulu dalam Kanamycin 100 ppm selama 5 menit dan Betadine selama 3 menit.

## Penanaman

Penanaman dilakukan dalam 'laminar air flow cabinet', yang telah disterilkan dengan sinar ultraviolet

minimal 60 menit. Sebelum disinari dengan sinar ultra-violet, sebaiknya laminar disemprot dahulu dengan alkohol 70%, lalu dibersihkan. Penanaman dilakukan dalam keadaan dimana peniup angin (blower) dan lampu menyala. Alat-alat yang akan dimasukkan dalam laminar disemprot dahulu dengan alkohol 70%.

Pengambilan eksplan dilakukan dengan pinset steril, kemudian segera dimasukkan ke dalam botol kultur dan ditutup rapat dengan aluminium foil.

Botol-botol kultur yang telah ditanami kemudian disimpan pada rak di dalam ruang kultur yang bertemperatur 23 - 27<sup>0</sup>C dengan kelembaban rata-rata 75 - 80%.

Penyinaran dilakukan terus menerus dengan menggunakan lampu neon 40 watt - 220 volt yang diletakkan 50 cm di atas botol kultur. Intensitas cahaya yang diterima oleh botol kultur adalah 600 lux.

#### Subkultur

Mulai dari tahap inisiasi dilakukan subkultur sebanyak empat kali. Subkultur pertama (I) dilakukan pada minggu ke-8 setelah tanam pada media yang sama dengan tahap inisiasi, yaitu media padat Murashige & Skoog dengan sukrosa 30 g/l. Pada minggu ke-15 dilakukan subkultur kedua pada media cair Murashige & Skoog dengan sukrosa 45 g/l, dilanjutkan dengan subkultur ketiga mulai minggu ke-21 sampai minggu ke-28 pada media yang sama.

## Pemeliharaan

Pemeliharaan yang dilakukan adalah membersihkan atau memindahkan eksplan yang terkontaminasi ke dalam media baru dengan komposisi yang sama. Pembersihan eksplan yang terkontaminasi bakteri dilakukan dengan menggunakan clorox 10 - 20%, sedangkan eksplan yang terkontaminasi cendawan dibersihkan dengan  $HgCl_2$ .

## Pengakaran

Pengakaran dilakukan mulai minggu ke-29 sampai minggu ke-34, pada media Murashige Skoog dengan penambahan IBA 5 mg/l. Eksplan yang diakarkan sebanyak 8 kultur.

## Pengamatan

Pengamatan dilakukan selama 36 minggu dengan perincian 7 minggu untuk tahap inisiasi, 13 minggu untuk tahap pemecahan dormansi, 8 minggu untuk tahap multiplikasi dan 8 minggu terakhir untuk tahap pengakaran.

Pengamatan dilakukan setiap minggu dan peubah yang diamati adalah:

- (a) Persentase eksplan yang tumbuh
- (b) Persentase eksplan yang mengalami multiplikasi
- (c) Persentase 'browning' atau pencoklatan
- (d) Persentase eksplan yang mengalami kontaminasi
- (e) Jumlah tunas
- (f) Jumlah daun
- (g) Pertambahan tinggi (cm)
- (h) Jumlah akar



## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Keadaan Umum Kultur

Tahap inisiasi berlangsung dari minggu ke-1 sampai minggu ke-7 setelah eksplan ditanam. Media yang dipakai adalah media padat Murashige & Skoog dengan penambahan BAP dan Kinetin sesuai perlakuan serta sukrosa 30 g/l.

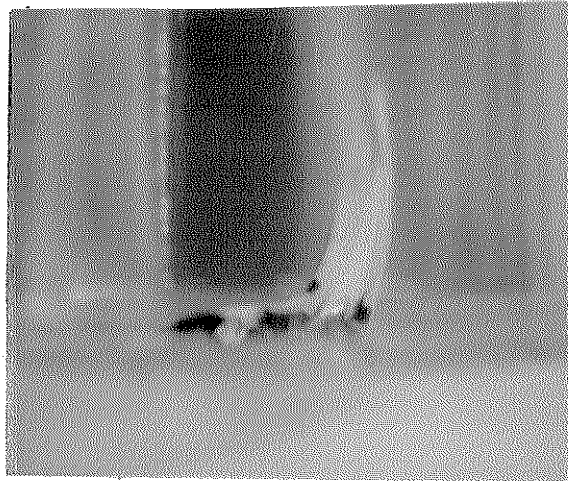
Dari sejumlah bahan tanaman yang disterilisasi (800 tunas anakan *Heliconia psittacorum* cv. Frosty Orange), jumlah eksplan yang bersih dan dapat dipakai untuk perlakuan adalah 12.5%. Sedangkan eksplan yang berubah warna menjadi coklat akibat sterilisasi yang terlalu kuat adalah 15%. Kontaminasi merupakan penyebab kematian eksplan yang terbesar yaitu 72.5%.

Secara umum eksplan yang hidup pada tahap inisiasi menunjukkan perubahan warna dari hijau keputihan menjadi hijau segar, seperti terlihat pada Gambar 2. Perubahan ini mulai terlihat sejak minggu pertama.

Pada minggu ke-4 dalam tahap inisiasi ini mulai terdapat eksplan yang mengalami pertumbuhan. Ciri-ciri yang mendahului pertumbuhan adalah pangkal tunas membesar dan diikuti dengan pecahnya ujung tunas.

Subkultur I dilakukan pada minggu ke-8 sampai minggu ke-14 dan dilakukan pada media yang sama dengan media pada saat inisiasi.

Subkultur dilakukan untuk menghindari kekurangan unsur hara dan juga karena pada kebanyakan kultur tampak akumulasi senyawa fenolik pada media, sehingga media berubah warna menjadi coklat. Sumber senyawa fenolik ini adalah bagian bawah eksplan atau pangkal ruas terakhir tunas yang terluka akibat irisan pada saat sterilisasi.



Gambar 2. Eksplan yang hidup. Tampak pada gambar eksplan yang hidup berwarna hijau segar.

Pada subkultur I ini eksplan yang mengalami pertumbuhan semakin banyak, dan pada minggu ke-8 mulai terlihat adanya eksplan yang mengalami multiplikasi atau penggandaan tunas.

Kontaminasi terjadi lagi pada minggu ke-3 pada eksplan yang sudah bersih. Kontaminasi ini disebabkan oleh bakteri dengan lendir atau eksudat berwarna putih. Pada media padat tanda-tanda adanya bakteri terlihat jelas, dimana media di sekitar eksplan menjadi berlendir dan ke-



ruh. Pada media cair tanda-tanda yang tampak adalah media menjadi keruh dan bila media diguncang-guncangkan, keruhnya tidak menghilang.

Menurut Nathan et al (1992) bakteri yang banyak terdapat pada *Heliconia psittacorum* adalah bakteri *Pseudomonas solanacearum*. Tetapi untuk kepastiannya perlu identifikasi lebih lanjut. Bakteri ini didefinisikan oleh Hartmann & Kester (1983) sebagai patogen internal. Patogen internal merupakan masalah yang serius karena sterilisasi yang dilakukan hanya mampu menghilangkan patogen eksternal (Hartmann & Kester, 1983).

Pada minggu ke-15 setelah eksplan ditanam dalam botol, dilakukan subkultur II. Subkultur II dilakukan pada media cair Murashige & Skoog dengan penambahan BAP dan Kinetin sesuai perlakuan. Sukrosa yang digunakan adalah 45 g/l. Pemindehan ke media cair dimaksudkan untuk memperluas permukaan kontak antara eksplan dengan media, sehingga penyerapan hara dari media ke eksplan menjadi lebih efektif. Menurut George & Sherington (1984), pada media padat permukaan eksplan yang kontak dengan media kurang dari setengahnya.

Penambahan sukrosa menjadi 45 g/l dimaksudkan terutama untuk mencegah penambahan jumlah eksplan yang berubah warna menjadi coklat. Tujuan lain adalah untuk meningkatkan multiplikasi pada eksplan.

Pada subkultur II ini eksplan yang terkena kontaminasi semakin meningkat seperti terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Persentase eksplan yang mengalami kontaminasi pada 20 minggu setelah tanam

| Perlakuan |              | Total eksplan yang mengalami kontaminasi (%) |                      |                       |
|-----------|--------------|--|----------------------|-----------------------|
| BAP mg/l  | Kinetin mg/l | 7 MST  | 14 MST (subkultur I) | 20 MST (subkultur II) |
| 2         | 2            | 0.00(0/9)                                    | 11.11(1/9)           | 44.44(4/9)            |
|           | 4            | 0.00(0/11)                                   | 18.18(2/11)          | 36.36(4/11)           |
|           | 8            | 0.00(0/10)                                   | 50.00(5/10)          | 50.00(5/10)           |
| 4         | 2            | 0.00(0/10)                                   | 20.00(2/10)          | 30.00(3/10)           |
|           | 4            | 0.00(0/10)                                   | 10.00(1/10)          | 30.00(3/10)           |
|           | 8            | 0.00(0/11)                                   | 18.18(2/11)          | 27.27(3/11)           |
| 8         | 2            | 9.09(1/11)                                   | 9.09(1/11)           | 36.36(4/11)           |
|           | 4            | 0.00(0/10)                                   | 40.00(4/10)          | 40.00(4/10)           |
|           | 8            | 0.00(0/12)                                   | 16.67(2/12)          | 25.00(3/12)           |
| Rata-rata |              | 1.01   | 21.47                | 35.49                 |

Peningkatan persentase kontaminasi disebabkan pada tahap inisiasi bakteri tidak dapat berkembang cepat, karena bakteri dalam keadaan 'stress', akibat sterilisasi. Konsentrasi sitokinin yang tinggi juga dapat menghambat pertumbuhan patogen. Menurut Hartmann & Kester (1983) patogen internal dapat tetap terhambat pertumbuhannya sampai eksplan disubkultur ke media yang baru. Setelah dilakukan subkultur patogen internal telah pulih dari 'stress'-nya, ditambah lagi suplai hara tersedia dalam



jumlah yang cukup untuk mendukung pertumbuhan dan perkembangan patogen.

Setelah subkultur II dilakukan subkultur III pada minggu ke-21 untuk melihat pengaruh BAP 2 mg/l dan Kinetin 2 mg/l pada multiplikasi tunas eksplan. Asal eksplan dari berbagai perlakuan, dimana eksplan yang dipindahkan ke subkultur III ini adalah eksplan yang bersih dan segar. Subkultur III hanya dilakukan pada 1 perlakuan yaitu BAP 2 mg/l dan Kinetin 2 mg/l, karena perlakuan tersebut merupakan perlakuan yang memberikan persentase multiplikasi tertinggi. Secara umum eksplan pada tahap ini mengalami pertumbuhan tinggi, jumlah tunas dan jumlah daun.

#### Pertumbuhan Tunas

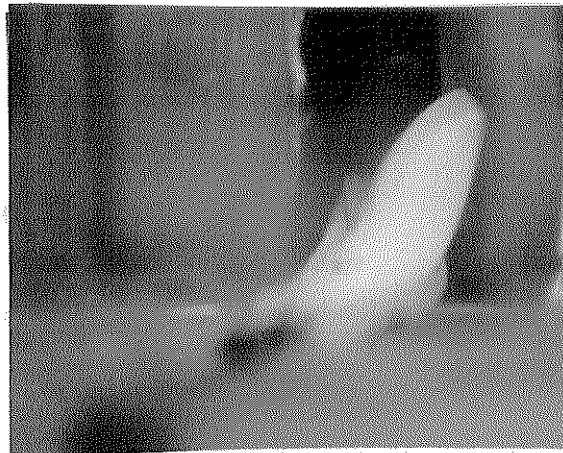
Pertumbuhan tunas mulai terjadi pada tahap inisiasi, pada minggu ke-4. Ciri-ciri pertumbuhan tunas adalah pangkal tunas membesar dan diikuti dengan pecahnya ujung tunas seperti yang terlihat pada Gambar 3. Secara umum pertumbuhan tunas terjadi pada semua perlakuan kecuali pada tahap inisiasi yaitu pada perlakuan BAP 8 mg/l dan Kinetin 2 mg/l serta BAP 8 mg/l dan Kinetin 4 mg/l.

Pada tahap inisiasi ini tingkat pertumbuhan tunas rata-rata dari semua perlakuan adalah 17.46%, dengan hasil tertinggi didapatkan pada perlakuan BAP 4 mg/l dan Kinetin 4 mg/l (40.00%), BAP 2 mg/l dan Kinetin 4 mg/l

(36.36%) serta BAP 2 mg/l dan Kinetin 2 mg/l (33.33%).

Pada perlakuan lain persentase pertumbuhan tunas berada di bawah rata-rata, dengan hasil terendah didapat pada perlakuan BAP 8 mg/l dan Kinetin 2 mg/l serta BAP 8 mg/l dan Kinetin 4 mg/l yaitu masing-masing 0.00%. Persentase pertumbuhan tunas rata-rata makin meningkat pada saat dilakukan subkultur I dan II yaitu menjadi 52.41% dan 57.68%. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 2.

Dari Tabel 2 juga terlihat perlakuan dengan BAP 2 mg/l dan BAP 4 mg/l serta Kinetin 2 mg/l dan 4 mg/l menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan perlakuan dengan BAP 8 mg/l dan Kinetin 8 mg/l.



Gambar 3. Eksplan yang mengalami pemecahan dormansi, dengan tanda-tanda pangkal tunas membesar diikuti oleh pecahnya ujung tunas

Terjadinya pertumbuhan disebabkan adanya sitokinin pada perlakuan. Menurut Drew (1980), salah satu fungsi sitokinin adalah menstimulasi pertumbuhan tunas.

Diduga sitokinin yang diberikan telah mengubah perimbangan auksin dengan sitokinin endogen pada tanaman. Perubahan perimbangan ini menyebabkan sitokinin dapat lebih berperan pada pembelahan sel di jaringan meristem tunas, sehingga dapat menstimulir pertumbuhan tunas (Prawiranata et al, 1981).

Tabel 2. Persentase eksplan yang tumbuh pada 20 minggu setelah tanam

| Perlakuan |              | Total eksplan yang tumbuh (%) |                         |                          |
|-----------|--------------|-------------------------------|-------------------------|--------------------------|
| BAP mg/l  | Kinetin mg/l | 7 MST                         | 14 MST<br>(subkultur I) | 20 MST<br>(subkultur II) |
| 2         | 2            | 33.33(3/9)                    | 66.67(6/9)              | 66.66(6/9)               |
|           | 4            | 36.36(4/11)                   | 45.45(5/11)             | 54.55(6/11)              |
|           | 8            | 20.00(2/10)                   | 60.00(6/10)             | 60.00(6/10)              |
| 4         | 2            | 10.00(1/10)                   | 70.00(7/10)             | 70.00(7/10)              |
|           | 4            | 40.00(4/10)                   | 80.00(8/10)             | 90.00(9/10)              |
|           | 8            | 9.09(1/11)                    | 54.55(6/11)             | 54.55(6/11)              |
| 8         | 2            | 0.00(0/11)                    | 27.27(3/11)             | 36.36(4/11)              |
|           | 4            | 0.00(0/10)                    | 40.00(4/10)             | 50.00(5/10)              |
|           | 8            | 8.33(1/12)                    | 25.00(3/12)             | 33.33(4/12)              |
| Rata-rata |              | 17.46                         | 52.41                   | 57.68                    |

Nathan et al (1992) mengatakan pada *Heliconia psittacorum* dibutuhkan konsentrasi BAP yang tinggi untuk stimulasi pertumbuhan tunas. Tetapi konsentrasi BAP yang terlalu tinggi yaitu 10 - 15 mg/l akan menghambat pertumbuhan dan menyebabkan daun menderita nekrosis tiga minggu setelah perlakuan (Wong, 1986).

Hal ini juga diamati pada kultur *Heliconia psittacorum* karena pemakaian BAP dan Kinetin dengan konsentrasi 8 mg/l mempunyai persentase pertumbuhan tunas yang paling rendah. Perlakuan BAP 4 mg/l dan Kinetin 4 mg/l menghasilkan persentase pertumbuhan tertinggi, diduga perlakuan ini merupakan kombinasi yang tepat untuk mengubah perimbangan auksin dengan sitokinin endogen dalam tanaman.

Peningkatan persentase pertumbuhan pada subkultur I dan II, diduga karena rata-rata eksplan sudah mampu beradaptasi, sehingga eksplan dapat menyerap hara lebih baik. Selanjutnya hara yang diserap ini digunakan untuk menstimulasi pertumbuhan tunas.

#### Multiplikasi

Multiplikasi mulai terjadi pada subkultur I dengan persentase rata-rata 8.93%. Persentase ini meningkat menjadi 10.17% pada subkultur II. Contoh eksplan yang mengalami multiplikasi dapat dilihat pada Gambar 4.

Perlakuan yang menghasilkan persentase multiplikasi tertinggi pada subkultur I dan II adalah BAP 2 mg/l dan Kinetin 2 mg/l, yaitu 22.22% pada subkultur I dan 33.33% pada subkultur II (Tabel 3).

Tidak adanya eksplan yang mengalami multiplikasi pada tahap inisiasi karena hara, sukrosa, zat pengatur tumbuh dan lainnya yang diserap, digunakan untuk pertumbuhan atau pemanjangan tunas. Untuk meningkatkan jumlah eks-



plan yang mengalami multiplikasi dilakukan penambahan sukrosa dari 30 g/l menjadi 45 g/l pada subkultur II.

Menurut Gunawan (1988)) sukrosa berfungsi sebagai sumber energi eksplan, karena dalam kultur jaringan eksplan yang ditanam merupakan bagian kecil dari tanaman dan bukan merupakan sistem yang lengkap. Ternyata rata-rata persentase multiplikasi hanya meningkat menjadi 8.93% (subkultur I) dan 10.17% (subkultur II), dimana peningkatan persentase multiplikasi hanya terjadi pada BAP 2 mg/l dan Kinetin 2 mg/l yaitu meningkat dari 22.22% menjadi 33.33%.



Gambar 4. Eksplan yang mengalami multiplikasi (ditunjukkan oleh anak panah). Tampak pada gambar pangkal tunas membengkak.

Salah satu fungsi sitokinin adalah menggandakan tunas (Wattimena, 1987). Hal ini dapat terjadi karena sitokinin yang diberikan secara eksogen diserap oleh eks-

plan yang dialirkan melalui xylem ke tempat-tempat tunas lateral, sehingga tunas lateral mengandung sitokinin yang tinggi. Hal ini dapat merangsang pertumbuhan tunas-tunas lateral sehingga terjadi penggandaan tunas. Selain itu sitokinin dapat menghilangkan dominansi apikal pada tanaman (Prawiranata et al, 1981).

Tabel 3. Persentase eksplan yang mengalami multiplikasi pada 20 minggu setelah tanam

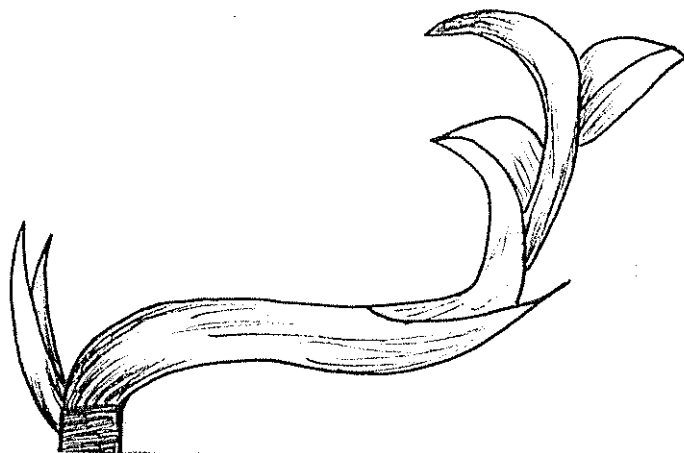
| Perlakuan                | Total eksplan yang mengalami multiplikasi (%) |                         |                          | Total tunas hasil multiplikasi |    |
|--------------------------|---|-------------------------|--------------------------|--------------------------------|----|
|                          | 7 MST   | 14 MST<br>(subkultur I) | 20 MST<br>(subkultur II) |                                |    |
| BAP Kinetin<br>mg/l mg/l |   |                         |                          |                                |    |
| 2                        | 2   | 0.00(0/9)               | 22.22(2/9)               | 33.33(3/9)                     | 21 |
|                          | 4   | 0.00(0/11)              | 0.00(0/11)               | 0.00(0/11)                     | 0  |
|                          | 8   | 0.00(0/10)              | 10.00(1/10)              | 10.00(1/10)                    | 2  |
| 4                        | 2   | 0.00(0/10)              | 10.00(1/10)              | 10.00(1/10)                    | 2  |
|                          | 4   | 0.00(0/10)              | 10.00(1/10)              | 10.00(1/10)                    | 2  |
|                          | 8   | 0.00(0/11)              | 9.09(1/11)               | 9.09(1/11)                     | 2  |
| 8                        | 2   | 0.00(0/11)              | 9.09(1/11)               | 9.09(1/11)                     | 2  |
|                          | 4   | 0.00(0/10)              | 10.00(1/10)              | 10.00(1/10)                    | 2  |
|                          | 8   | 0.00(0/12)              | 0.00(0/12)               | 0.00(0/12)                     | 0  |
| Rata-rata                | 0.00  | 8.93                    | 10.17                    |                                |    |

Menurut Nathan et al (1992) pada *Heliconia psittacorum* untuk menginisiasi tunas diperlukan konsentrasi sitokinin yang tinggi, tetapi untuk penggandaan tunas diperlukan konsentrasi yang lebih rendah. Pada percobaan Wong (1986) konsentrasi sitokinin antara 10 - 15 mg/l ternyata menurunkan tingkat multiplikasi. Menurut Mante



& Tepper (1983) pada perbanyakan kultur jaringan pisang *Musa textilis*, konsentrasi optimum BAP yang diperlukan untuk memaksimalkan multiplikasi tunas adalah 3 - 5 mg/l, sedangkan pada tingkat konsentrasi yang lebih tinggi yaitu lebih dari 5 mg/l, eksplan gagal bermultiplikasi. Penurunan kecepatan multiplikasi pada kenaikan kombinasi BAP dan Kinetin juga teramati pada kultur *Heliconia* ini, karena kultur yang mengalami multiplikasi tertinggi terdapat pada perlakuan dengan konsentrasi sitokinin terendah yaitu perlakuan BAP 2 mg/l dan Kinetin 2 mg/l.

Hal yang juga teramati pada kultur ini adalah terjadinya pemanjangan tunas, seperti yang diperlihatkan pada Gambar 5. Dari hasil pengamatan terjadi pemanjangan tunas pada beberapa perlakuan yaitu BAP 2 mg/l dan Kinetin 2 mg/l ulangan 4 = 6.5 cm, BAP 2 mg/l dan Kinetin 2 mg/l ulangan 6 = 4 cm, BAP 4 mg/l dan Kinetin 8 mg/l ulangan 5 = 2.5 cm, BAP 4 mg/l dan Kinetin 8 mg/l ulangan 3 = 3 cm serta BAP 8 mg/l dan Kinetin 4 mg/l ulangan 7 = 3.5 cm. Wong (1986) mengatakan dalam berbagai penelitian pada tanaman pisang ditemukan bahwa BAP lebih efektif dari Kinetin dalam penggandaan tunas. Tetapi walaupun Kinetin menyebabkan penggandaan tunas yang rendah, Kinetin menstimulasi pemanjangan tunas secara horisontal seperti pembentukan rimpang dan menginduksi akar yang vigor.



Gambar 5. Eksplan yang mengalami pemanjangan tunas secara horisontal. Tampak pada gambar tunas memanjang, setelah itu dari ujung akan keluar tunas lateral.

Pada minggu ke-21 dilakukan subkultur III, dimana semua eksplan dari berbagai perlakuan yang dalam keadaan baik seperti yang terlihat pada Gambar 6 dimasukkan ke dalam perlakuan BAP 2 mg/l dan Kinetin 2 mg/l (30 eksplan). Asal eksplan juga ada yang berasal dari pemotongan kultur BAP 2 mg/l dan Kinetin 2 mg/l yang mempunyai jumlah tunas yang banyak. Pemindahan semua kultur ke BAP 2 mg/l dan Kinetin 2 mg/l mengingat persentase multiplikasi terbesar terdapat pada BAP 2 mg/l dan Kinetin 2 mg/l. Pemecahan tunas tidak dapat dilakukan secara simetris, karena ukuran tunas yang tidak sama besar.

Hasil dari pemindahan ke satu perlakuan tersebut dapat dilihat pada Tabel 4 dan Tabel 5. Pada Tabel 4 terlihat 3 dari 4 kultur hasil pemecahan perlakuan BAP 2 mg/l dan Kinetin 2 mg/l ulangan 4 menunjukkan multiplika-

si. Kecepatan multiplikasi setelah 8 minggu adalah 1.6 kali. Jumlah tunas diperkirakan akan meningkat bila waktu kultur lebih panjang.



Gambar 6. Contoh eksplan dari berbagai perlakuan yang dalam keadaan baik dan dimasukkan ke dalam perlakuan BAP 2 mg/l dan Kinetin 2 mg/l

Kultur dari media lain yang dipindahkan ke perlakuan BAP 2 mg/l dan Kinetin 2 mg/l juga menunjukkan pertambahan tunas. Hasil pemindahan dari media lain ke media perlakuan BAP 2 mg/l dan Kinetin 2 mg/l dapat dilihat pada Tabel 5. Eksplan yang dapat diamati pada Tabel 4 dan Tabel 5 hanya 10 eksplan karena eksplan yang lain mengalami kontaminasi.

Tabel 4. Jumlah tunas, daun dan pertambahan tinggi pada subkultur III (28 minggu setelah tanam)

| Asal eksplan | Ulangan | Jumlah tunas awal | Jumlah tunas akhir | Jumlah daun awal | Jumlah daun akhir | Pertambahan tinggi tunas tertinggi (cm) |
|--------------|---------|-------------------|--------------------|------------------|-------------------|---|
| (B2K2)4      | 4.1     | 5                 | 9                  | 2                | 3                 | 4.0                                     |
|              | 4.2     | 4                 | 4                  | 2                | 7                 | 1.5                                     |
|              | 4.3     | 6                 | 8                  | 3                | 5                 | 1.0                                     |
|              | 4.4     | 1                 | 4                  | -                | -                 | 1.0                                     |
| Total tunas: |         | 16                | 25                 |                  |                   |   |
| (B2K2)6      | 6.1     | 2                 | 3                  | 1                | 3                 | 1.5                                     |
|              | 6.2     | 1                 | 1                  | 1                | 2                 | 2.5                                     |
| Total tunas: |         | 3                 | 4                  |                  |                   |   |

Tabel 5. Jumlah tunas, daun dan pertambahan tinggi pada eksplan yang dipindahkan ke perlakuan BAP 2 mg/l dan Kinetin 2 mg/l (28 minggu setelah tanam)

| Asal eksplan | Jumlah tunas awal | Jumlah tunas akhir | Jumlah daun awal | Jumlah daun akhir | Pertambahan tinggi (cm) |
|--------------|-------------------|--------------------|------------------|-------------------|-------------------------|
| (B2K8)9      | 2                 | 3                  | -                | -                 | 1.0                     |
| (B4K2)9      | 2                 | 3                  | 3                | 5                 | 1.5                     |
| (B4K8)5      | 2                 | 4                  | 3                | 7                 | 7.0                     |
| (B8K2)8      | 2                 | 2                  | 1                | 3                 | 1.5                     |
| Total tunas: | 8                 | 12                 |                  |                   |                         |

Eksplan yang mengalami multiplikasi dari hasil pemindahan ke satu perlakuan yaitu BAP 2 mg/l dan Kinetin 2 mg/l dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Eksplan yang berasal dari perlakuan BAP 2 mg/l dan Kinetin 2 mg/l yang dimasukkan kembali ke dalam perlakuan BAP 2 mg/l dan Kinetin 2 mg/l, serta telah mengalami multiplikasi pada subkultur III

#### Browning (Pencoklatan)

Pada penelitian kultur *Heliconia* ini, pencoklatan mulai terjadi pada minggu ke-9. Persentase rata-rata pencoklatan adalah 0.00% (7 minggu setelah tanam), 21.59% (14 minggu setelah tanam) dan meningkat menjadi 49.58% (20 minggu setelah tanam) (Tabel 6). Pada Tabel 6 juga terlihat semakin tinggi konsentrasi sitokinin tingkat eksplan yang mengalami pencoklatan cenderung semakin tinggi. Hal ini sesuai dengan pernyataan Pierik (1997)



yang mengatakan bahwa konsentrasi sitokinin yang terlalu tinggi dapat menyebabkan eksplan mengalami pencoklatan.

Tabel 6. Persentase eksplan yang mengalami pencoklatan pada 20 minggu setelah tanam

| Perlakuan |              | Total eksplan yang mengalami browning (%) |                      |                       |
|-----------|--------------|---|----------------------|-----------------------|
| BAP mg/l  | Kinetin mg/l | 7 MST                                     | 14 MST (subkultur I) | 20 MST (subkultur II) |
| 2         | 2            | 0.00(0/9)                                 | 11.11(1/9)           | 44.44(4/9)            |
|           | 4            | 0.00(0/11)                                | 36.36(4/11)          | 54.55(6/11)           |
|           | 8            | 0.00(0/10)                                | 0.00(0/10)           | 30.00(3/10)           |
| 4         | 2            | 0.00(0/10)                                | 10.00(1/10)          | 30.00(3/10)           |
|           | 4            | 0.00(0/10)                                | 20.00(2/10)          | 70.00(7/10)           |
|           | 8            | 0.00(0/11)                                | 36.36(4/11)          | 73.73(7/11)           |
| 8         | 2            | 0.00(0/11)                                | 45.45(5/11)          | 54.55(6/11)           |
|           | 4            | 0.00(0/10)                                | 10.00(1/10)          | 40.00(4/10)           |
|           | 8            | 0.00(0/12)                                | 25.00(3/12)          | 50.00(6/12)           |
| Rata-rata |              | 0.00                                      | 21.59                | 49.58                 |

Terjadinya hal ini diduga karena sitokinin mengaktifkan enzim yang berfungsi untuk mensintesa senyawa fenolik. Hasil oksidasi ini bersifat toksik sehingga dapat menyebabkan eksplan mengalami pencoklatan (Zaid, 1984). Senyawa fenol dapat juga berikatan dengan protein dan kemudian mengalami oksidasi, akibatnya protein atau enzim kehilangan aktivitasnya dan berakhir dengan kematian jaringan. Kultur yang mengalami pencoklatan dapat dilihat pada Gambar 8.



Untuk menurunkan persentase pencoklatan, pada subkultur II dilakukan penambahan sukrosa dari 30 g/l menjadi 45 g/l. Tetapi hal ini tidak berhasil, karena mungkin penambahan sukrosa sudah terlambat.



Gambar 8. Eksplan yang mengalami perubahan warna menjadi coklat (A) dan eksplan yang segar berwarna hijau (B)

Gupta (1986) mengatakan masalah pencoklatan dan kontaminasi merupakan penyebab terbesar kematian kultur pada famili Musaceae.

#### Pengakaran

Pengakaran dilakukan pada minggu ke-29 sampai minggu ke-34 pada media Murashige & Skoog padat dengan penamba-

Pada Tabel 7 terlihat hanya 1 kultur yang menghasilkan akar dari 8 kultur yang diakarkan. Sedikitnya kultur yang berakar diduga karena pemberian sitokinin yang terlalu tinggi dari minggu ke-1 sampai minggu ke-28. Menurut Pierik (1987) pemberian sitokinin yang tinggi yaitu antara 1 - 10 mg/l mampu menginduksi tunas, namun biasanya pembentukan akar terhambat. Hal ini disebabkan karena pemberian sitokinin eksogen yang tinggi akan membuat rasio antara sitokinin dengan auksin menjadi tinggi, dimana perbandingan tersebut akan mampu menginduksi tunas tetapi akan menghambat pembentukan akar (Prawiranata et al, 1981).

Tabel 7. Jumlah akar yang dihasilkan pada tahap pengakaran (34 minggu setelah tanam)

| Perlakuan             | Jumlah akar yang dihasilkan |
|-----------------------|-----------------------------|
| (B2K2) <sub>4.1</sub> | 3                           |
| (B2K2) <sub>4.2</sub> | 0                           |
| (B2K2) <sub>4.3</sub> | 0                           |
| (B2K2) <sub>4.4</sub> | 0                           |
| (B2K2) <sub>6.1</sub> | 0                           |
| (B2K8) <sub>9</sub>   | 0                           |
| (B4K2) <sub>9</sub>   | 0                           |
| (B4K8) <sub>5</sub>   | 0                           |

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Perlakuan BAP 4 mg/l dan Kinetin 4 mg/l merupakan perlakuan yang paling baik dalam menginduksi pertumbuhan eksplan *Heliconia psittacorum* cv. Frosty Orange.

Secara umum semakin tinggi konsentrasi sitokinin yang digunakan multiplikasi yang terjadi semakin menurun sedangkan pencoklatan semakin meningkat, sehingga perlakuan BAP 2 mg/l dan Kinetin 2 mg/l merupakan perlakuan yang paling baik dalam menggandakan tunas (multiplikasi) eksplan *Heliconia psittacorum* cv. Frosty Orange.

### Saran

Perlu dilakukan pencarian metoda yang tepat untuk mensterilisasi tunas pucuk *Heliconia* yang akan dijadikan eksplan.

Perlu dilakukan penelitian terhadap kultur *Heliconia* dengan perlakuan BAP dan Kinetin konsentrasi rendah yaitu antara < 2 mg/l.

Perlu dilakukan penelitian untuk mencari media yang tepat sebagai media perakaran bagi kultur *Heliconia*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Damasco, O.P. and R.C. Barba. 1984. In vitro culture of *Saba banana*. Phil. Agr. 67:351-358
- Donselman, H. and T.K. Brschat. 1986. Production of *H. psittacorum* for cut flowers in South Florida. Fort Lauderdale Res, Education Centre. Ornamentals Res. Rpt. 86 - 1
- Drew, R.A. 1980. Tissue culture in Horticultural crops. Queensland Agric. J. 106(1):6-12
- Economou A.S. and P.E. Read. 1987. Light treatments to improve efficiency of in vitro propagation system. Hort. Scy. 22(5):751-754
- Gamborg, O.L. and J.P. Shyluk. 1981. Nutrition media and characteristic of plant cell and T.C. p.21-43. In T.A. Thorpe (ed). Plant T.C., Methods and Application in Agriculture. Academic Press. New York
- George, E.F. and P.D. Sherrington. 1984. Plant propagation by tissue culture. Exegetics, Ltd. England. 709 p.
- Gunawan, L.W. 1988. Tehnik kultur jaringan. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman, Pusat Antar Universitas Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor. Bogor. 252 hal.
- Gupta, P.P. 1986. Eradication of mozaik disease and rapid multiplication of banana and plantain through meristem tip culture. Plant cell tissue and organ culture. 6:33-39
- Hartmann, H.T. and D.K. Kester. 1983. Plant propagation principles and practice. Prentice-Hall of India Private Limited. New Delhi. 662 p.
- Haryani. 1993. New comers heliconia 1993. Trubus no 279 tahun XXIV. Hal 34-36
- Hussey, G. 1978. The application tissue culture to the vegetatif propagation of plants. Sci. Prog. 65:185-208

- Kepler, A.K. 1989. Exotic tropicals of Hawaii. Mutual publishing company 2055 North King Street. Honolulu, Hawaii
- Mante, S. and H.B. Tepper. 1983. Propagation of *Musa textilis* nee plants from apical meristem slice in vitro. Plant cell tissue and organ culture. 2:51-159
- Murashige, T. 1977. Current status of plant cell and organ culture. Hort. Sci. 12(2):127-130
- Nathan, M.J., C.J. Goh and P.P. Kumar. 1992. In vitro propagation of *Heliconia psittacorum* by bud culture. Hort. Sci. 27(5):450-452
- Noggle, G.R. and G.J. Fritz. 1979. Introducing plant physiology. Prentice-Hall of India Private Limited. New Delhi. 688 p.
- Pierik, R.L.M. 1987. In vitro culture of higher plants. Martinus Nijhoff Publ. Netherlands. 344p.
- Prawiranata, W., S. Harran dan P. Tjondronegoro. 1989. Dasar-dasar fisiologi tumbuhan. Laboratorium Fisiologi Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Szweykowska, A. 1974. The role of cytokinine in the control of cell growth and differentiation in culture. p. 416-475. in H.E. Street. (ed.). Tissue culture and plant science. Academic Press Inc. New York
- Umarna, S.T. dan L. Sansan. 1991. Pisang hias. Penebar Swadaya. 141 hal.
- Zaid, A. 1984. In vitro browning of tissues and media with special emphasis to date palm cultures. In Date Palm Journal. 3 (1): 269 - 275.
- Wattimena, G.A. 1987. Zat pengatur tumbuh tanaman. Pusat Antar Universitas, Institut Pertanian Bogor. Bogor. 145 hal.
- Wetherell, D.F. 1982. Pengantar propagasi tanaman secara in vitro. IKIP Semarang Press. Semarang. 110 hal. (terjemahan)
- Wong, W.C. 1986. In vitro propagation of banana (*Musa* spp.), initiation, proliferation and development of









# L A M P I R A N

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang memperjualbelikan sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa izin pencipta/penyusun dan memperbedakan sumber.
2. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau penerjemahan harus mencantumkan sumber.
3. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
4. Dilarang menggunakan kembali dan menyalin sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Tabel Lampiran 1. Komposisi media Murashige &amp; Skoog

| Larutan stok | Jenis senyawa                             | Konsentrasi larutan stok (g/l) | Volume larutan dalam media (ml/l) | Konsentrasi senyawa dalam media (mg/l) |
|--------------|---|--------------------------------|-----------------------------------|--|
| A            | $\text{NH}_4\text{NO}_3$                  | 82.500                         | 20                                | 1650.000                               |
| B            | $\text{KNO}_3$                            | 95.000                         | 20                                | 1900.000                               |
| C            | $\text{KH}_2\text{PO}_4$                  | 34.000                         | 5                                 | 170.000                                |
|              | $\text{H}_3\text{BO}_3$                   | 1.240                          |                                   | 6.200                                  |
|              | $\text{Na}_2\text{MoO}_4$                 | 0.050                          |                                   | 0.250                                  |
|              | $\text{CoCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  | 0.005                          |                                   | 0.025                                  |
|              | KI  | 0.166                          |                                   | 0.830                                  |
| D            | $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 88.000                         | 5                                 | 440.000                                |
| E            | $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 74.000                         | 5                                 | 370.000                                |
|              | $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ | 4.460                          |                                   | 22.300                                 |
|              | $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 1.720                          |                                   | 8.600                                  |
|              | $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ | 0.005                          |                                   | 0.025                                  |
| F            | $\text{Na}_2\text{EDTA}$                  | 7.450                          | 5                                 | 37.250                                 |
|              | $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 5.570                          |                                   | 27.850                                 |
| Vitamin      | Thiamine HCl                              | 0.020                          | 5                                 | 0.100                                  |
|              | Nicotinic acid                            | 0.100                          |                                   | 0.500                                  |
|              | Pyridoxine HCl                            | 0.100                          |                                   | 0.500                                  |

Tambahan: sukrosa 30 g/l dan 45 g/l  
 Myo-inositol 100 mg/l  
 Glycine 2 mg/l  
 Ca pantotenat 8 mg/l  
 Agar 7 g/l  
 NAA 0.2 mg/l  
 BAP dan Kinetin sesuai perlakuan

