

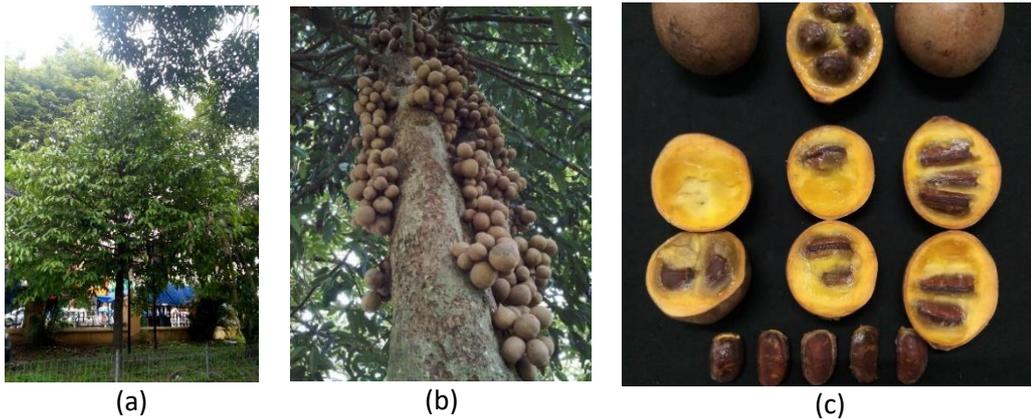
II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Kepel (*Stelechocarpus burahol* [Bl.] Hook. F. & Thomson)

Kepel merupakan tumbuhan yang banyak ditemukan di pulau Jawa, terutama di daerah Jawa Barat, Jawa Tengah, dan Yogyakarta. Di Jawa Tengah dan Yogyakarta tumbuhan ini ditanam di sekitar keraton, sedangkan di Jawa Barat tumbuhan ini tumbuh secara liar (Heyne, 1987). Kepel termasuk kedalam kingdom Plantae, subkingdom Trachebionta, superdivisi Spermatophyta, divisi Magnoliophyta, kelas Magnoliopsida, subkelas Magnoliidae, ordo Magnoliales, famili *Annonaceae*, genus *Stelechocarpus*, dan spesies *Stelechocarpus burahol* [Bl.] Hook. F. & Thomson) (Simpson, 2006).

Kepel termasuk jenis pohon yang tinggi dengan tinggi maksimal 25 m. Tumbuhan ini tumbuh pada ketinggian 150 - 300 m di atas permukaan laut dan biasanya tumbuh liar di hutan-hutan sekunder pada tanah yang berlempung dan lembab serta dapat tumbuh baik diantara rumpun-rumpun bambu. Kepel memiliki batang yang berwarna coklat tua sampai kehitaman dan bagian kulitnya berbenjol-benjol yang merupakan tempat bekas keluarnya bunga dan buah. Daun dari tumbuhan ini merupakan daun tunggal yang berbentuk lonjong atau bulat lonjong dengan ujung runcing. Bunganya berwarna hijau keputihan, berkelamin tunggal dan mengeluarkan aroma harum. Bunga jantan terletak pada bagian atas batang atau cabang-cabang tua yang bergerombol sedangkan bunga betinanya terletak pada batang bagian bawah. Buah kepel berbentuk bulat dan pangkalnya runcing (seperti buah buni) dengan warna coklat keabu-abuan, tumbuh pada bagian batang, dan beraroma harum. Tanaman kepel biasanya berbunga pada bulan

September-Oktober. Buah kepel dapat dipanen untuk pertama kali pada saat enam tahun setelah penanaman. Penyebaran tumbuhan ini mulai dari kawasan Asia Tenggara sampai ke kawasan Malesia dan Kepulauan Salomon (Mogea *et al.*, 2001 dalam Hatmi dkk., 2014).



Gambar 1. Tanaman kepel (a) pohon kepel, (b) buah kepel, (c) biji kepel

Beberapa bagian dari pohon kepel mempunyai nilai manfaat yang besar diantaranya buah, biji, daun dan kayu. Buah kepel dapat dimanfaatkan sebagai deodoran oral yang dapat mengurangi bau pada tubuh. Daging buah kepel dalam bidang kesehatan dipercaya dapat memperlancar air kencing, mencegah inflamasi ginjal, serta sebagai antiimplantasi untuk mencegah kehamilan. Biji kepel mengandung saponin, flavonoid, polifenol dan alkaloid. Kandungan zat sitotoksik pada daun kepel juga dapat dimanfaatkan untuk menghambat dan menghentikan pertumbuhan sel kanker. Kayu dari pohon kepel dapat digunakan untuk bahan industri serta bahan bangunan.

Budidaya tanaman kepel umumnya dilakukan secara generatif. Perbanyakan tanaman kepel menggunakan biji memerlukan waktu persemaian yang lama karena biji sulit untuk berkecambah, sehingga populasi dari kepel menjadi terbatas. Biji kepel memiliki masa dormansi yang lama sekitar 4-6 bulan untuk berkecambah

secara alami (Isnaeni dan Habibah, 2014). Maka dari itu perlu dilakukan perbanyak tanaman kepel secara kultur *in vitro* untuk mempercepat pertumbuhan dan mendapatkan jumlah tanaman yang banyak.

B. Kultur *in Vitro*

Kultur *in vitro* tanaman merupakan teknik menumbuhkembangkan tanaman, baik berupa sel, jaringan atau organ berupa aseptik secara *in vitro* (Yustina, 2003). Menurut Hendaryono dan Wijayani (1994), tujuan kultur *in vitro* adalah untuk membiakkan tanaman dalam ukuran kecil seperti organ tanaman, sel, jaringan, tepung sari, protoplas, dan sebagainya.

Perbanyak tanaman secara kultur *in vitro* memiliki beberapa keuntungan antara lain menghasilkan bibit dalam jumlah banyak, seragam dalam waktu singkat, sifat tanaman sama dengan induknya, dapat digunakan untuk mendapatkan tanaman yang bebas penyakit, digunakan untuk mengembangkan tanaman yang hampir punah, kesehatan bibit lebih terjamin dan kecepatan tumbuh lebih cepat dibanding cara konvensional (Santoso dan Nursandi, 2004). Untuk mengembangkan tanaman secara kultur *in vitro* sampai menjadi planlet dan akhirnya menjadi tanaman lengkap yang siap dipindahkan ke medium tanah, maka terdapat beberapa tahapan utama yang harus dilakukan, yaitu: (1) pemilihan sumber tanaman yang akan digunakan sebagai bahan awal, (2) penanaman dalam medium yang sesuai sampai terjadi perbanyak, (3) pembentuk tunas dan akar sampai terbentuk planlet, (4) aklimatisasi, yaitu proses adaptasi di luar sistem kultur *in vitro*, (5) penanaman pada medium biasa (Yuwono, 2006).

Dalam budidaya kultur *in vitro*, menginduksi terbentuknya kalus merupakan salah satu langkah penting yang kemudian dilanjutkan dengan memaju terjadinya diferensiasi sehingga terbentuk akar dan tunas (Suryowinoto, 1996). Menurut Gunawan (1992), kemampuan pembentukan kalus dari jaringan organ tergantung umur fisiologi jaringan waktu diisolasi, musim pada waktu bahan tanam diisolasi, bagian tanaman yang dipakai, dan jenis tanaman.

Salah satu penyebab kegagalan dalam kultur *in vitro* adalah kontaminasi. Kontaminasi yang berasal dari eksplan sering sekali menjadi kendala utama yang sulit untuk dihilangkan. Bakteri dan cendawan akan tumbuh dengan cepat dan menutupi permukaan media dan eksplan yang ditanam. Mikroorganisme menyerang eksplan melalui luka-luka akibat pemotongan dan penanganan waktu sterilisasi sehingga menyebabkan kematian jaringan eksplan. Beberapa jenis organisme mikro juga melepaskan persenyawaan toksik ke dalam medium yang menyebabkan kematian jaringan tanaman (Wattimena *et al.*, 1992).

C. Hidrogen Peroksida (H₂O₂)

Hidrogen peroksida (H₂O₂) merupakan larutan yang berfungsi untuk membunuh jamur maupun bakteri yang ada. Sterilisasi bahan permukaan tanaman dapat dilakukan dengan bermacam-macam bahan pensteril (sterililan). Prosedur sterilisasi permukaan dengan menggabungkan etanol dengan NaOCl, atau H₂O₂ terbukti dapat mengurangi kontaminasi pada beberapa jenis tanaman (Oyebanji *et al.*, 2009). Menurut Traore *et al.* (2005) dalam Martiansyah dkk. (2013), jenis dan jumlah bahan sterilan pada proses kultur jaringan mempengaruhi tingkat kontaminasi, misalnya kultur tanaman pinus di Amerika Utara memerlukan lima

jenis bahan sterilan. Menurut Livy (1987), ada sekitar sepuluh jenis bahan yang digunakan dalam sterilisasi permukaan, yaitu kalsium hipoklorit, natrium hipoklorit, hidrogen peroksida, gas klorin, perak nitrat, merkuri klorid, betadin, fungisida, antibiotik dan alkohol. Bentuk dan konsentrasi yang digunakan dan waktu yang dibutuhkan untuk kegiatan sterilisasi harus ditentukan secara tepat. Jika belum diketahui secara pasti tentang hal tersebut maka dapat dipilih bentuk dan waktu sterilisasi yang telah digunakan untuk bahan tanam lain yang kurang lebih mendekati keasaman. Pemberian H_2O_2 terhadap sterilisasi permukaan yaitu karena *Hydrogen peroxide* mampu membunuh jamur maupun bakteri yang ada (Nurtjahjaningsih, 2009).

Penggunaan H_2O_2 mempunyai kelebihan dan kekurangan dan memberikan hasil yang berbeda untuk setiap jenis eksplan yang digunakan dan senyawa ini bersifat toksik, namun tidak merusak jaringan. Konsentrasi H_2O_2 yang digunakan untuk sterilisasi permukaan eksplan biasanya berkisar 3-20% tergantung pada jenis bahan tanaman yang digunakan. Hidrogen peroksida dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan cendawan dengan cara menghidrolisis sel atau menggumpalkan protein yang terdapat pada protoplasma. Protein yang telah menggumpal kehilangan fungsinya sehingga bakteri dan cendawan mengalami kematian. Dibandingkan dengan bahan kimia lainnya, H_2O_2 merupakan bahan yang ramah lingkungan karena mudah terurai menjadi air dan oksigen (Srivastava *et al.*, 2010). Menurut Hendaryono dan Wijayani (1994) menyebutkan bahwa H_2O_2 dapat digunakan dalam konsentrasi sebanyak 3-12% dalam waktu 5-15 menit.

D. Medium *Murashige* dan *Skoog*

Medium adalah faktor utama dalam perbanyakan kultur *in vitro*. Keberhasilan perbanyakan dan perkembangbiakan tanaman dengan metode kultur *in vitro* secara umum sangat bergantung pada jenis medium yang digunakan. Ada dua penggolongan medium tumbuh yaitu medium padat dan medium cair. Medium padat pada umumnya berupa padatan gel, seperti agar, dimana nutrisi dicampurkan pada agar. Medium cair adalah nutrisi yang dilarutkan di air. Medium cair dapat bersifat tenang atau dalam kondisi selalu bergerak, tergantung dari kebutuhan. Komposisi medium yang digunakan pada kultur *in vitro* dapat berbeda-beda komposisinya. Perbedaan komposisi medium dapat mengakibatkan perbedaan pertumbuhan dan perkembangan eksplan yang ditumbuhkan secara kultur *in vitro*.

Medium yang digunakan pada kultur *in vitro* berpengaruh besar terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksplan yang akan dihasilkan. Oleh karena itu, bermacam-macam medium kultur *in vitro* dibuat untuk menyesuaikan dengan berbagai jenis kebutuhan nutrisi eksplan yang digunakan. Medium tumbuh untuk eksplan berisi kualitatif komponen bahan kimia yang hampir sama, hanya berbeda pada tingkat konsentrasi tiap-tiap persenyawaan. Medium dasar yang sering digunakan dalam kultur *in vitro* adalah medium MS dan modifikasinya (Chen *et al.*, 2004 dalam Nurjaman, 2015). Beberapa medium yang digunakan dalam kultur *in vitro* antara lain, medium Vacin and Went, MS (*Murashige and Skoog*), medium B5, medium *Lin & Staba*, Medium *Knudson*, dan medium WPM (*Woody Plant Medium*).

Media MS (*Murashige* dan *Skoog*) adalah media yang umum dan paling banyak digunakan dalam kultur jaringan. Media MS merupakan perbaikan dari media *Skoog* pada komposisi garam organiknya. Media MS memiliki kandungan N dalam jumlah tinggi dalam bentuk nitrit dibandingkan jenis media lainnya (Gunawan, 1992). Medium *Murashige* dan *Skoog* merupakan medium yang memiliki kandungan unsur hara lengkap dan diperkaya oleh vitamin dan hormon. Umumnya digunakan untuk berbagai tujuan kultur.

E. Zat Pengatur Tumbuh

Zat pengatur tumbuh pada tanaman yaitu senyawa organik yang bukan unsur hara yang dalam jumlah sedikit mampu mengubah proses fisiologi tumbuhan (Abidin, 1993). Tanpa penambahan zat pengatur tumbuh dan medium, pertumbuhan sangat terhambat bahkan tidak tumbuh sama sekali. Pembentukan kalus dan organ-organ ditentukan oleh penggunaan yang tepat dari zat pengatur tumbuh tersebut (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Pada kultur *in vitro*, dua golongan zat pengatur tumbuh yang sangat penting yaitu auksin dan sitokinin. Kedua zat tersebut sangat mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis dalam kultur sel dan jaringan. Auksin merupakan kelompok senyawa yang cirinya mampu menyebabkan pemanjangan sel pada jaringan tunas muda. Auksin juga berpengaruh pada pertumbuhan buah dan pembentukan akar. Dalam konsentrasi rendah, auksin merangsang pematangan sel, tetapi dalam konsentrasi tinggi berfungsi sebaliknya (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

2,4-D (2,4 *Dichlorophenoxy acetic acid*) merupakan auksin buatan sintesis sejenis herbisida aktif mempunyai sifat lebih stabil dari IAA karena tidak mudah

terurai pemanasan pada proses sterilisasi. Auksin jenis 2,4-D banyak dipergunakan untuk induksi kalus. Kekurangan auksin 2,4 D adalah kestabilan genetik, yang akan menyebabkan meningkatnya keragaman genetik (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Sitokinin merupakan suatu senyawa hormon tumbuhan yang menginduksi pembelahan sel, diferensiasi tunas, serta pembentukan dominasi apikal pada kultur *in vitro*, menunda penuan organ (senesen), merangsang pembentukan daun,, pertumbuhan akar, dan batang (Lakitan, 1995). Dalam pertumbuhan jaringan, sitokinin berpengaruh terutama pada pembelahan sel. Pemberian sitokinin dengan kadar yang relatif tinggi, diferensiasi kalus cenderung akan mengarah pada pembentukan primodial batang dan tunas (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

BAP (*Benzil Amino Purin*) merupakan zat pengatur tumbuh yang tergolong dalam sitokinin sintetik, yang dalam penggunaannya dipengaruhi oleh ZPT lainnya (Wattimena, 1988). BAP bersifat stabil dibandingkan dengan sitokinin lainnya, tidak mahal, tersedia cepat dan sangat efektif. BAP berperan dalam mengarahkan transpor zat hara, mendorong proses morfogenesis, pertunasan, pembentukan kloroplas, pemecahan dormasi, pembukaan stomata, pembungaan dan menstimulir dan proliferasi kalus dan meristem ujung (Santoso dan Nursandi, 2004).

F. Hipotesis

Sterilisasi biji kepel dengan menggunakan H₂O₂ 10% selama 15 menit diduga dapat menghasilkan eksplan yang steril dan mampu menghambat kontaminan.