

PENGARUH 2,4-D DAN AIR KELAPA TERHADAP PERKEMBANGAN
KALUS KUMIS KUCING (*Orthosiphon stamineus* Benth) PADA
MEDIA MS SECARA *IN-VITRO*

KARYA ILMIAH TERTULIS
(SKRIPSI)

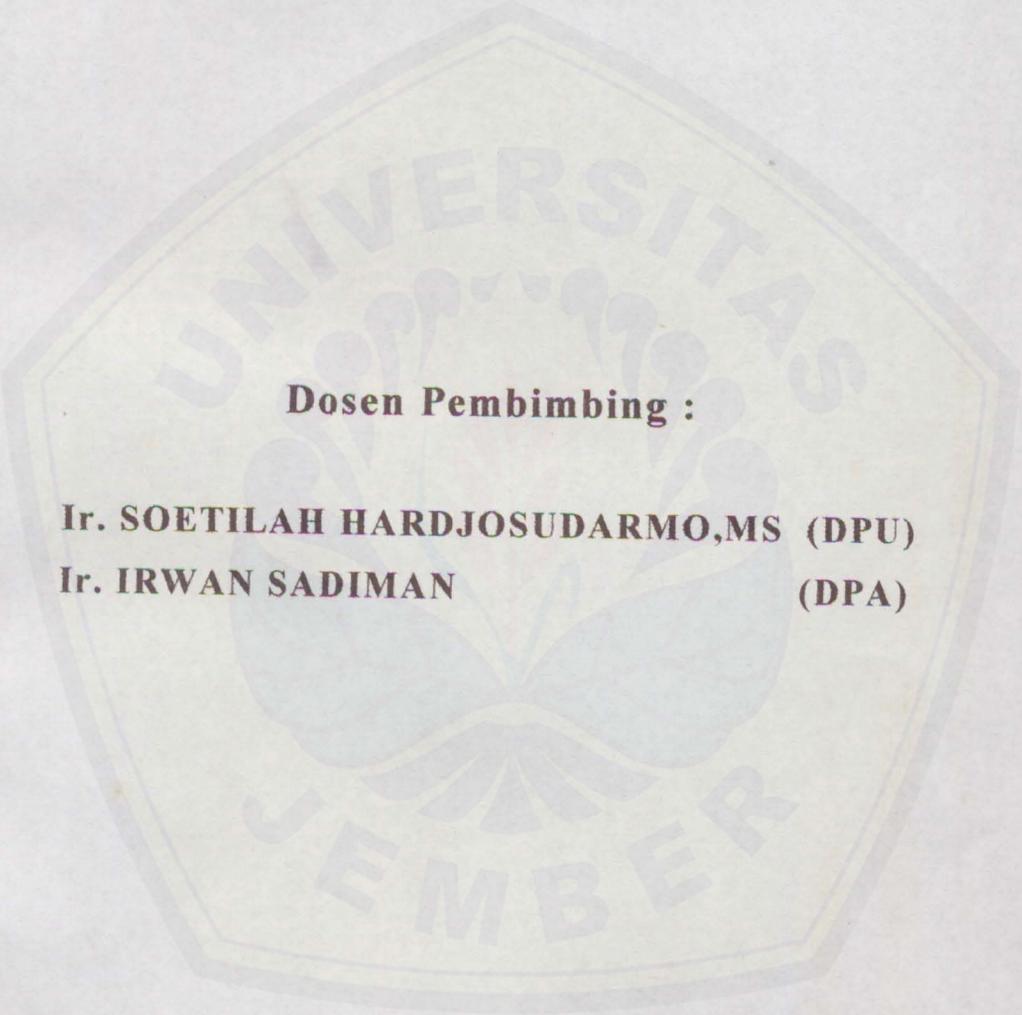
Diajukan Guna Memenuhi Salah Satu Syarat Untuk
Menyelesaikan Pendidikan Program Sarjana Strata Satu
Jurusan Agronomi Fakultas Pertanian
Universitas Jember

Oleh :

NAJMAH FAIZAH
NIM. 9615101216

Kelas	Statistik Descriptive	KLAS
Tarikh	02 NOV 2000	S 630
No. Induk	1023809/2000	FAI p c-1

FAKULTAS PERTANIAN UNIVERSITAS JEMBER
OKTOBER, 2000



Dosen Pembimbing :

Ir. SOETILAH HARDJOSUDARMO,MS (DPU)

Ir. IRWAN SADIMAN (DPA)

MOTTO :

“Maha Suci Engkau ya Allah, tiada yang aku ketahui kecuali yang Engkau ajarkan, sesungguhnya Engkau Maha Mengetahui dan Maha Bijaksana”

“Kenalilah kekurangan dirimu dan kenalilah pula kelebihan orang lain”

“Kesabaran dan Tawakal adalah kunci kesuksesan”

“Cara terbaik untuk keluar dari persoalan adalah memecahkan persoalan itu sendiri“ (Brendam Francis)

“Di dalam pengalaman yang menyakitkan seringkali kita menemukan kegembiraan” (Santo Basilius)

Karya Tulis Ini Kupersembahkan Kepada :

1. Ayah (**Drs. Bawi Fathoni**) dan Ibu (**Dra. Zainab Utsman**) tercinta yang telah memberiku banyak cinta, kasih sayang, dan do'a. Semoga kelak aku dapat membalasnya.
2. Kakak-kakakku : **Thohir Affandi,S.Pd.MSc** dan **Raihanah Ifadah,S.P** (semoga bahagia selalu), serta **Rahmah Sa'idah,S.P** (terima kasih atas segala nasehatnya).
Adik-adikku : **Darimiyya Hidayati, Rif'ah Inayati, dan Kuni Zu'aimah Barikah** (kalian harus dapat mencapai yang lebih dari kakakmu ini).
3. Keponakanku, si kecil **Ahmad Zamzam Zainuna** yang lucu. Kamu telah memberi kebahagiaan bagi kami semua.
4. Guru-guru yang telah membimbingku hingga aku dapat mencapai semua ini.
5. Almamater tercinta.

Diterima oleh Fakultas Pertanian
Universitas Jember sebagai
Karya Ilmiah Tertulis (Skripsi)

Dipertimbangkan pada :

Hari : Jum'at

Tanggal : 27 Oktober 2000

Tempat : Fakultas Pertanian
Universitas Jember

Tim Penguji
Ketua

Ir. Soetilah Hardjosudarmo, MS
NIP. 130 531 988

Anggota I

Ir. Irwan Sadiman
NIP. 131 287 089

Anggota II

Ir. Chamim Ibrahim
NIP. 130 889 222



Mengesahkan
Dekan

Ir. Arie Mudjiharjati, MS
NIP. 130 609 808

KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas Rahmat dan Hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Ilmiah Tertulis dengan judul **Pengaruh Air Kelapa dan 2,4-D terhadap Perkembangan Kalus Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus* Benth) pada Media MS secara *In-Vitro*** yang merupakan salah satu syarat untuk menyelesaikan Pendidikan Program Sarjana Strata Satu pada Jurusan Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada semua pihak, terutama yang terhormat :

1. **Ir. Arie Mudjiharjati, MS** selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Jember.
2. **Dr. Ir. M. Setyo Purwoko, MS** selaku Ketua Jurusan Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Jember yang telah memberikan izin penelitian dan kesempatan kepada penulis untuk menyelesaikan Karya Ilmiah Tertulis.
3. **Ir. Ketut Anom W, PhD** selaku Dosen Wali yang telah memberikan arahan dan bimbingan selama masa studi di Fakultas Pertanian Universitas Jember.
4. **Ir. Soetilah HS, MS** selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah memberikan bimbingan dalam penyelesaian Karya Ilmiah Tertulis.
5. **Ir. Irwan Sadiman** selaku Dosen Pembimbing Anggota I yang telah memberikan bimbingan, petunjuk, dan nasehat sejak awal sampai selesainya Karya Ilmiah Tertulis.
6. **Ir. Chamim Ibrahim** selaku Dosen Pembimbing Anggota II yang telah memberikan bimbingan dalam penyelesaian Karya Tertulis Ilmiah.
7. **Ayah dan Ibu, kakak dan adikku tersayang** serta **Aam** yang lucu.
8. **Sahabat-sahabatku** : Ihsan, Yuni, Ade, mas Ibnu, dan Diah yang telah mendorong, memberi semangat, nasehat dan masukan yang sangat berarti dalam menyelesaikan Karya Ilmiah Tertulis.
9. **Seluruh Kru Dasgro** : Jumari, Yori, Nurul, Heru, Sugeng, dan Sugik, terima kasih atas segala pengertian dan kebersamaannya.

10. **Seluruh Teman seperjuangan Kuljar** : Huda, Naning, mas Fauzi, Novi, Vera, dan Luluk, semoga kita jadi orang yang sabar.
 11. **Seluruh staf Laboratorium Kultur Jaringan Jurusan Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Jember** atas kerja sama dan bantuannya dalam mempersiapkan penelitian sampai tersusunnya Karya Ilmiah Tertulis.
 12. **Angkatan '96 Agronomi**, dan semua pihak yang telah memberikan saran, bantuan, dan dorongan semangat dalam menyelesaikan Karya Ilmiah Tertulis.
- Penulis berharap mudah-mudahan Karya Ilmiah Tertulis ini dapat digunakan sebagai acuan penelitian di masa mendatang.

Jember, Oktober 2000

Penulis

DAFTAR ISI

JUDUL.....	i
HALAMAN DOSEN PEMBIMBING.....	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iv
HALAMAN PENGESAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
RINGKASAN.....	xii
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang Permasalahan	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	3
1.3 Kegunaan Penelitian.....	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Deskripsi Tanaman	5
2.2 Teknik Kultur Jaringan.....	5
2.3 Media Kultur Jaringan.....	6
2.4 Zat Pengatur Tumbuh.....	7
2.5 Air Kelapa sebagai Senyawa Organik Kompleks.....	8
2.6 Hipotesis	10
III. BAHAN DAN METODE PENELITIAN	
3.1 Tempat dan Waktu.....	11
3.2 Bahan dan Alat.....	11
3.3 Metode Penelitian	11
3.4 Pelaksanaan Penelitian.....	12
3.4.1 Sterilisasi Alat	12
3.4.2 Sterilisasi Eksplan	12

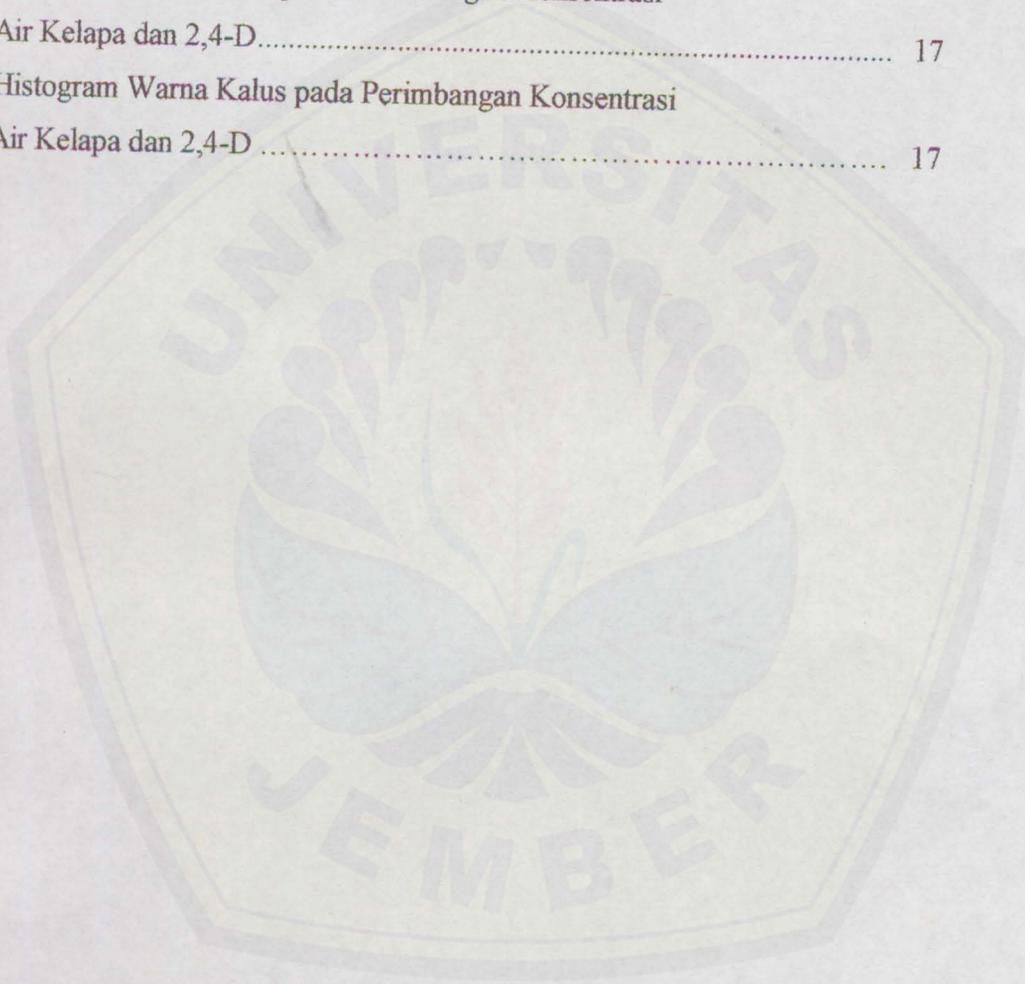
3.5	Parameter Pengamatan.....	13
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN		
4.1	Hasil Penelitian	14
4.2	Pembahasan	17
4.2.1	Saat Terbentuknya Kalus	17
4.2.2	Persentase Terbentuknya Kalus	19
4.2.3	Berat Kalus	20
4.2.4	Warna Kalus	22
V. KESIMPULAN DAN SARAN		
5.1	Kesimpulan	24
5.2	Saran	24
DAFTAR PUSTAKA.....		25
LAMPIRAN		

DAFTAR TABEL

Nomor		Halaman
	<i>Teks</i>	
1.	Komposisi Garam-garam Anorganik pada Media MS	7
2.	Komposisi Nutrisi yang Terdapat dalam Air Kelapa.....	9
3.	Indeks Warna Kalus.....	13
4.	Rangkuman Hasil Sidik Ragam pada Tiga Parameter	14
5.	Hasil Uji Duncan 5% pada Pengaruh Interaksi	15
	<i>Lampiran</i>	
1.	Data Saat Terbentuknya Kalus (hari).....	28
2.	Sidik Ragam Saat Terbentuknya Kalus	28
3.	Data Berat Kalus (g).....	29
4.	Sidik Ragam Berat Kalus	29
5.	Data Warna Kalus	30
6.	Sidik Ragam Warna Kalus	30
7.	Data Persentase Terbentuknya Kalus.....	31
8.	Transformasi Data dari Lampiran 7. Didasarkan pada Transformasi Arcsin.....	31

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Histogram Saat Terbentuknya Kalus pada Perimbangan Konsentrasi Air Kelapa dan 2,4-D.....	16
2. Histogram Berat Kalus pada Perimbangan Konsentrasi Air Kelapa dan 2,4-D.....	17
3. Histogram Warna Kalus pada Perimbangan Konsentrasi Air Kelapa dan 2,4-D	17



RINGKASAN

Najmah Faizah, 9615101216, Pengaruh 2,4-D dan Air Kelapa terhadap Perkembangan kalus Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus Benth*) pada Media MS secara *In-Vitro*, di bawah bimbingan Ir. Soetilah HS, MS (DPU) dan Ir. Irwan Sadiman (DPA)

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi air kelapa dan konsentrasi 2,4-D serta interaksi keduanya yang tepat untuk mengoptimalkan perkembangan kalus tanaman kumis kucing. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan jurusan Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Jember. Penelitian dimulai pada bulan Mei sampai Juli 2000.

Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) faktorial yang terdiri dari 2 faktor perlakuan dengan 3 ulangan. Faktor pertama adalah konsentrasi air kelapa meliputi 3 taraf yaitu 0% (A1), 10%(A2), 20%(A3). Faktor kedua adalah konsentrasi 2,4-D meliputi 3 taraf yaitu 1 ppm(B1), 2 ppm(B2), 3 ppm(B3), meliputi parameter saat terbentuknya kalus (hari), presentasi terbentuknya kalus, berat kalus (g), dan warna kalus.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa interaksi air kelapa dan 2,4-D menunjukkan hasil berbeda sangat nyata terhadap parameter saat terbentuknya kalus, berbeda nyata terhadap berat dan warna kalus, dan berbeda tidak nyata terhadap persentase terbentuknya kalus. Interaksi antara konsentrasi 20% air kelapa dan 1 ppm 2,4-D memberikan hasil yang lebih baik terhadap berat kalus dan warna kalus, namun berbeda tidak nyata terhadap saat terbentuknya kalus dan persentase terbentuknya kalus.

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Permasalahan

Kemajuan teknologi dan ilmu pengetahuan ternyata tidak mampu begitu saja menghilangkan arti pengobatan tradisional. Dewasa ini pengobatan dengan cara-cara tradisional semakin populer di dalam negeri maupun di luar negeri (Wibowo, 1999). Penggunaan tumbuhan obat secara tradisional semakin disukai karena pada umumnya tidak menimbulkan efek samping seperti halnya obat-obatan dari bahan kimia. Hal ini sesuai dengan keinginan masyarakat di negara-negara maju saat ini yang cenderung memilih bahan-bahan dari alam (Back to Nature). Penggunaan tanaman obat itu sendiri banyak macam ragamnya, ada yang digunakan sebagai obat kuat (tonikum), sebagai obat penyakit, maupun untuk tujuan mempercantik diri (kosmetik) (Tampubolon, 1995).

Kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* Benth) merupakan tanaman yang berkhasiat obat. Sebenarnya kumis kucing sudah tidak asing lagi bagi masyarakat umum, misalnya penduduk Jawa yang sudah berabad-abad lamanya mengenal kumis kucing ini sebagai obat penyakit kandung kencing batu dan ginjal (Dharma, 1985). Daun kumis kucing mengandung garam kalium yang relatif tinggi (0,7 – 3,5%), glukosida, orthosiphonin, saponin dan minyak atsiri. Hal inilah yang menyebabkan kumis kucing telah lama dikenal sebagai komoditi ekspor dan mendapat kedudukan yang kuat dalam dunia pengobatan modern (Moko.dkk, 1995).

Namun, pada kenyataannya sangat sedikit masyarakat yang menanam kumis kucing sebagai tanaman obat keluarga, apalagi penanaman dalam skala besar. Padahal banyak negara-negara di dunia seperti Jerman dan Belanda yang mengimpor tanaman obat ini dari Indonesia. Hal ini menyebabkan produsen kumis kucing mengalami kesulitan dalam memenuhi permintaan dari negara-negara tersebut (Wibowo, 1999).

Untuk meningkatkan nilai guna dari kumis kucing sebagai tanaman obat perlu dilakukan pemuliaan terhadap tanaman tersebut. Adapun salah satu caranya melalui teknik kultur jaringan. Pemuliaan tanaman secara *in-vitro* ini bertujuan untuk memperoleh hasil yang lebih baik bila dibandingkan dengan teknik konvensional (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Menurut Darwis (1989), di bidang pertanian bioteknologi kultur jaringan dapat dimanfaatkan untuk (1) perbanyak tanaman secara massal, (2) mendapatkan tanaman bebas virus dan penyakit lainnya melalui kultur meristem, (3) melestarikan plasma nutfah, (4) memproduksi senyawa metabolit sekunder antara lain untuk industri obat dan kosmetika, (5) perbaikan tanaman melalui metode keragaman somaklonal, hibridisasi somatik, pembuahan *in-vitro* dan transformasi gen, organela, dan kromosom.

Di samping itu, Wattimena (1988) mengemukakan salah satu keuntungan dalam kultur *in-vitro* adalah dapat dimanfaatkan untuk penyediaan bibit dalam jumlah besar dalam waktu singkat, tidak bergantung pada musim dan tidak merusak tanaman induk serta bibit lebih seragam.

Gunawan (1988) mengemukakan bahwa induksi terbentuknya kalus merupakan salah satu langkah awal yang penting untuk menyiapkan proses-proses berikutnya. Kalus diharapkan memperbanyak dirinya (massa selnya) secara terus menerus (Gunawan, 1988).

Keberhasilan dalam penerapan kultur *in-vitro* sangat bergantung pada media yang digunakan. Komposisi dari media kultur jaringan harus memenuhi persyaratan umum yang terdiri dari elemen organik, anorganik, senyawa organik lain, vitamin, zat pengatur tumbuh, serta zat pematat (Wetherell, 1982).

Pertumbuhan kalus yang baik perlu ditunjang dengan penggunaan media tumbuh yang tepat. Media untuk induksi kalus yang paling banyak digunakan adalah media MS (Gunawan, 1988).

Media MS (Murashige dan Skoog) paling banyak digunakan untuk berbagai tujuan kultur dibanding dengan media-media yang lainnya (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Hal ini karena media MS mengandung 40 μ N dalam bentuk NO_3

dan 29 mμ dalam bentuk NH_4^+ . Kandungan N ini lima kali lebih tinggi dari N total yang terdapat pada media Miller, 15 kali lebih tinggi dari media tembakau Hildebrant, dan 19 kali lebih tinggi dari media White. Kalium juga ditingkatkan sampai 20 mμ, sedangkan P 1,25 mμ. Unsur-unsur makro lainnya juga dinaikkan sedikit (Gunawan, 1988).

Untuk mendukung terjadinya pertumbuhan kalus maka digunakan zat pengatur tumbuh 2,4-D (*2,4-Diclorofenoxy acetic acid*). 2,4-D termasuk zat pengatur tumbuh dari golongan auksin (Abidin, 1985). Pada umumnya auksin cenderung merangsang pembentukan kalus dalam kultur *in-vitro*, tetapi 2,4-D merupakan zat pengatur pertumbuhan yang paling potensial untuk induksi kalus (Sastrowijoyo, 1976). Zat pengatur tumbuh adalah senyawa organik bukan nutrisi yang aktif dalam jumlah kecil dan disintesis pada bagian tertentu tanaman. Selanjutnya ditranslokasikan sehingga menimbulkan respon biokimia, fisiologi, dan morfologi (Wattimena, 1988).

Air kelapa merupakan salah satu bahan media yang mudah dan murah. Air kelapa sebagai senyawa organik kompleks mempunyai komponen penyusun yang penting (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Komponen yang terdapat dalam air kelapa antara lain : gula, asam amino, asam organik, vitamin, fitohormon, dan elemen-elemen hara tertentu yang juga merupakan bahan penyusun media kultur *in-vitro*. Berbagai hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan air kelapa mendorong pertumbuhan tanaman atau kultur secara *in-vitro* (Mandang, 1997).

Berdasarkan hal tersebut maka perlu dilakukan suatu penelitian tentang pengaruh air kelapa dan 2,4-D terhadap perkembangan kalus kumis kucing.

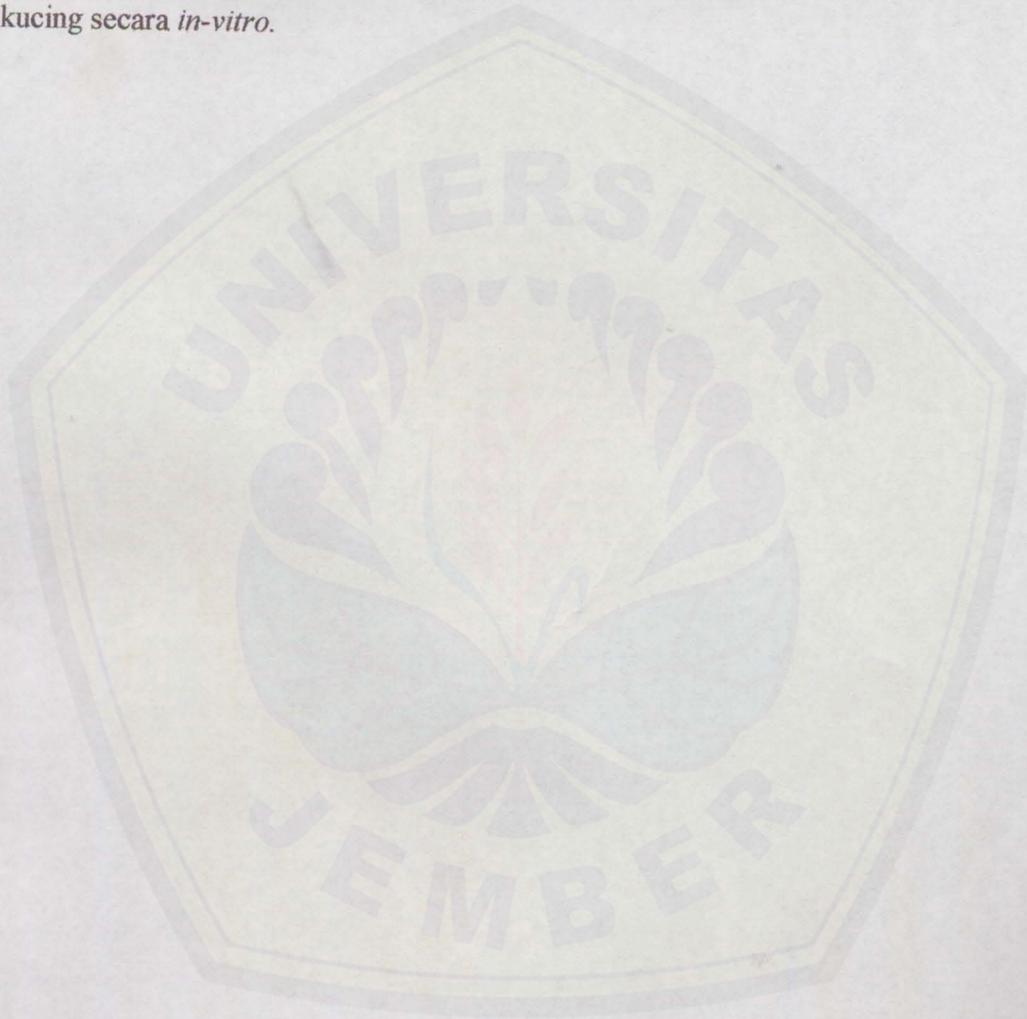
1.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi air kelapa dan 2,4-D serta interaksi keduanya yang tepat untuk mengoptimalkan perkembangan kalus tanaman kumis kucing.

1.3 Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharap dapat berguna untuk :

1. Memperbanyak khasanah ilmu pengetahuan khususnya dalam usaha budidaya tanaman kumis kucing melalui kultur jaringan.
2. Memberikan dasar pengembangan teknik pengembangbiakan tanaman kumis kucing secara *in-vitro*.



II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Deskripsi Tanaman

Kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* Benth) termasuk familia labiatae. Kumis kucing merupakan tanaman obat yang berupa semak tegak, batang agak persegi, berbulu halus, dan beralur. Daun tunggal, bentuk bulat telur memanjang, berbulu lembut, pinggir daun bergerigi besar-besar, helaian daun berbulu halus yang merupakan rambut kelenjar dan merupakan minyak atsiri (Gunawan, 1999).

Bunga majemuk, bentuk tandan, muncul di pucuk-pucuk ranting dengan benang sari panjang, dan berwarna putih. Akar keluar dari ruas batang dekat tanah. Tanaman ini banyak ditemukan tumbuh liar di dataran rendah maupun dataran tinggi dan tidak membutuhkan persyaratan tumbuh yang sulit (Rukmana, 1995).

Secara tradisional daun kumis kucing berkhasiat menghancurkan atau melarutkan batu ginjal dan merangsang keluarnya air seni (Gunawan, 1999). Berdasarkan aktivitas biologi yang telah diteliti, daun kumis kucing bersifat diuretik (peluruh air seni), melarutkan batu ginjal, dan anti radang. Diduga efek diuretik pada kumis kucing disebabkan oleh kandungan garam kaliumnya yang tinggi (600-750 mg tiap 100 g daun segar), inositol, dan saponin (Ariyanti, 1998).

2.2 Teknik Kultur Jaringan

Kultur jaringan adalah suatu metode mengisolasi bagian dari tanaman seperti protoplasma, sel, sekelompok sel, jaringan, dan organ yang ditumbuhkan dalam kondisi aseptik sehingga bagian-bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman lengkap kembali (Gunawan, 1988).

Pembiakan tanaman secara kultur jaringan didasarkan pada sifat totipotensi, yaitu kemampuan dari sel tanaman untuk tumbuh dan berkembang membentuk tanaman yang sempurna. Budidaya dengan teknik kultur jaringan ini banyak memberikan keuntungan, antara lain produksi tanaman dapat lebih banyak, bebas dari penyakit, dan tidak membutuhkan tempat yang luas (Hartatik, 1987).

Bagian tanaman yang digunakan sebagai bahan inisiasi dalam kultur disebut *eksplan*. Eksplan dapat beregenerasi melalui proses *organogenesis* atau *embriogenesis*. *Organogenesis* merupakan proses yang menginduksi pembentukan jaringan, sel, atau kalus menjadi organ-organ, seperti tunas dan akar. *Embriogenesis* merupakan proses terbentuknya embrio somatik. Tanaman lengkap yang dihasilkan dalam kultur disebut *plantlet* (Wetter dan Constabel, 1991).

Kalus adalah suatu kumpulan sel amorphous yang terjadi dari sel-sel jaringan awal yang membelah diri secara terus menerus. Pada kultur *in-vitro*, kalus dapat dihasilkan dari potongan organ yang telah steril dalam media yang mengandung auksin dan kadang-kadang juga sitokinin.

Kalus dapat diinisiasi dari hampir semua bagian tanaman, tetapi organ yang berbeda menunjukkan kecepatan pembelahan sel yang berbeda pula. Bagian tanaman seperti embrio muda, hipokotil, kotiledon, dan batang muda merupakan bagian yang mudah untuk dediferensiasi menghasilkan kalus (Gunawan, 1988).

2.3 Media Kultur Jaringan

Media dasar MS (Murashige dan Skoog) digunakan pada hampir semua tanaman, terutama tanaman herbaceus. Media ini mempunyai konsentrasi garam-garam mineral yang tinggi dan senyawa N dalam bentuk NO_3^- sebesar 40 mM, 29 mM dalam bentuk NH_4^+ (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Komposisi garam-garam anorganik pada media MS disajikan dalam tabel 1.

Tabel 1. Komposisi Garam-Garam Anorganik pada Media MS

Nama Senyawa	Rumus Kimia	Kadar (mg/l)
A. Makronutrien		
1. Amonium nitrat	NH_4NO_3	1650
2. Kalium nitrat	KNO_3	1900
3. Kalsium klorida dihidrat	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440
4. Magnesium sulfat 7 hidrat	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370
5. Kalium dihidrogen fosfat	KH_2PO_4	170
B. Mikronutrien		
1. Mangan sulfat 4 hidrat	$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	22.3
2. Seng sulfat 7 hidrat	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8.6
3. Asam Borat	H_3BO_3	6.2
4. Kalium iodida	KI	0.83
5. Kupri sulfat 5 hidrat	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.025
6. Natrium molibdol dihidrat	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.25
7. Cobalt klorida 6 hidrat	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.025
8. Ferro sulfat 4 hidrat	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27.8
9. Dinatrium EDTA (Etilen Diamin Tetra Asetat)	$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	37.3
C. Vitamin		
1. Mio-inositol		100
2. Thiamin HCl		0.1
3. Nicotinic acid		0.5
4. Piridoksin HCl		0.5
5. Glisin		2

Sumber : Hendaryono dan Wijayani (1994).

2.4 Zat Pengatur Tumbuh

Zat pengatur tumbuh merupakan unsur penting dalam media kultur yang tidak dapat ditinggalkan. Zat pengatur tumbuh dibutuhkan dalam jumlah yang sangat sedikit, memegang peranan dalam pembelahan dan pertumbuhan sel (Abidin, 1985). Zat pengatur tumbuh khususnya auksin dan sitokinin mengatur pertumbuhan organ-organ. Jadi dibutuhkan untuk pembentukan tunas atau akar atau regenerasi bagian

tumbuhan terutama dari eksplan yang tumbuh menjadi kalus dan berdiferensiasi menjadi tunas dan akar (Wattimena, 1988).

Peran auksin antara lain merangsang pembelahan dan pembesaran sel yang terdapat pada pucuk tanaman dan menyebabkan pertumbuhan pucuk-pucuk baru (Abidin, 1985). Secara alami beberapa eksplan memproduksi auksin dalam jumlah yang cukup, tapi kebanyakan membutuhkan tambahan, paling tidak auksin yang tidak stabil seperti IAA dalam jumlah kecil. Penambahan auksin dalam jumlah yang lebih besar atau penambahan auksin yang lebih stabil seperti NAA atau 2,4-D cenderung menyebabkan terjadinya pertumbuhan kalus dari eksplan dan menghambat regenerasi pucuk tanaman (Wetherell, 1982).

Gati dan Mariska (1989) menyatakan bahwa pemakaian 2,4-D pada kultur *Mentha* sp dengan konsentrasi 1, 3, dan 5 mg/l menghasilkan berat segar kalus tertinggi pada konsentrasi 1 mg/l. Pada konsentrasi 3 dan 5 mg/l terjadi penurunan berat segar kalus.

Pada kultur tembakau kultivar Mranggen Grompol dengan media MS digunakan zat pengatur tumbuh 2,4-D pada konsentrasi 1 – 6 mg/l, dihasilkan berat segar dan berat kering terbesar pada konsentrasi 1 mg/l (Latif, 1990).

2.5 Air Kelapa Sebagai Senyawa Organik Kompleks

Selain persenyawaan organik yang konstitusinya jelas, kadang-kadang dalam media kultur jaringan juga ditambahkan persenyawaan yang kompleks, yang komposisinya dapat berbeda dari sumber yang satu dengan yang lainnya. Persenyawaan organik yang sering digunakan adalah air kelapa (Gunawan, 1988).

Bahan-bahan penyusun air kelapa antara lain : gula, asam amino, asam organik, vitamin, fitohormon, dan elemen-elemen hara tertentu yang juga merupakan bahan penyusun media kultur *in-vitro*.

Komposisi bahan/nutrisi yang terdapat di dalam air kelapa secara lengkap disajikan dalam tabel berikut ini :

Tabel 2. Komposisi nutrisi yang terdapat dalam air kelapa muda

Jenis Bahan	Jumlah (mg/l)	Jenis Bahan	Jumlah (mg/100g)
Asam nikotianat	0.64	K	312
Asam pantotenat	0.52	Cl	183
Biotin	0.02	Na	105
Riboflavin	0.01	Mg	30
Asam folat	0.03	S	24
Thiamin	Sedikit sekali	Fe	0.1
Pyridoxin	Sedikit sekali	Cu	0.04
Auksin	0.07		
Gibberellin	Sedikit sekali		
1,3 difenil urea	5.80		
Sorbitol	15.00		
Myo inositol	0.01		
Scillo inositol	0.05		

Sumber : Harjadi dan Pamenang (1981)

Di dalam air kelapa juga terkandung sukrosa dan gula lainnya, unsur-unsur hara, dan zat-zat penstimulir pertumbuhan dalam jumlah yang seimbang untuk pertumbuhan dan perkembangan jaringan-jaringan yang dibiakkan dengan kultur jaringan (Harjadi dan Pamenang, 1981).

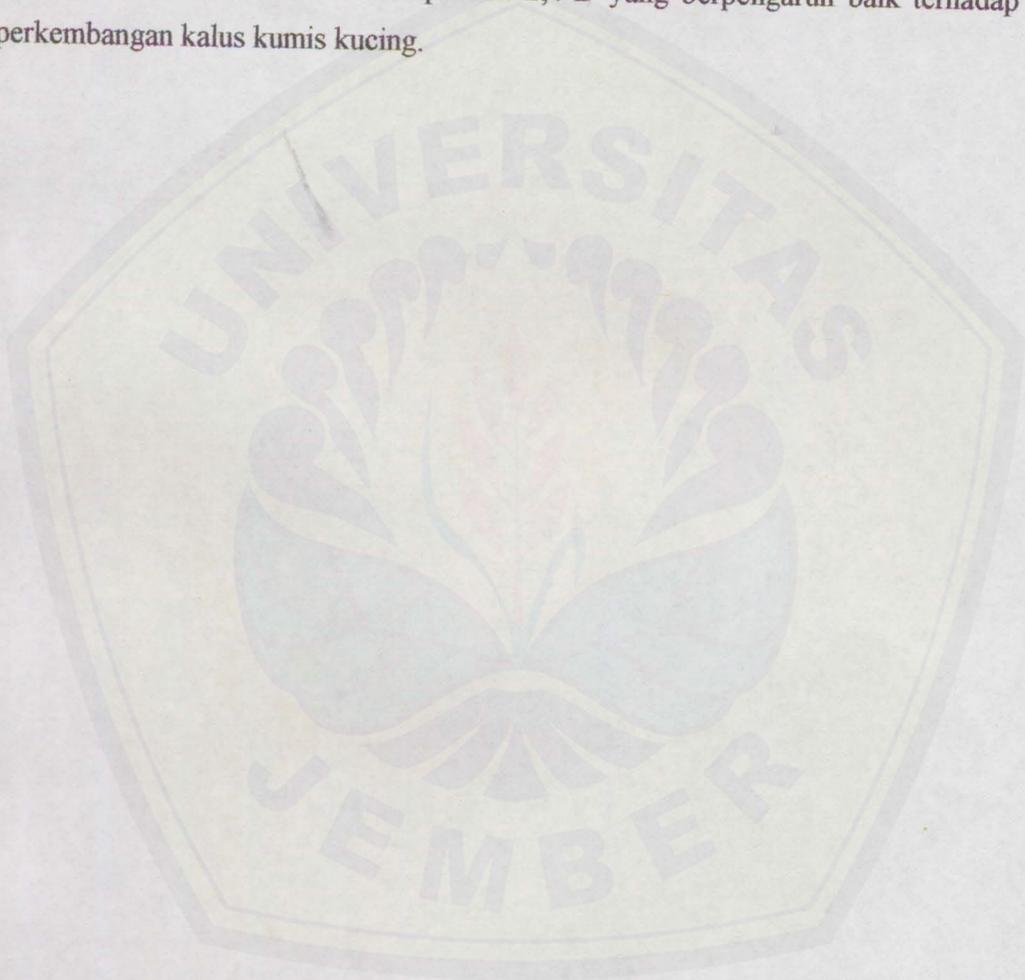
Air kelapa mengandung difenil urea yang mempunyai aktivitas memacu pembelahan sel, sebab air kelapa adalah endosperm yang terbentuk setelah terjadi pembuahan atau peleburan inti sperma dengan inti sel telur. Endosperm buah kelapa sangat kaya akan makanan, maka jika air kelapa tersebut ditambahkan ke dalam media kultur jaringan, eksplan yang ditanam dapat tumbuh baik. Penambahan air kelapa umumnya berkisar antara 5 sampai 20% (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Penambahan air kelapa dalam medium berarti meningkatkan nutrisi dalam medium, terdiri dari bahan organik yang kompak dan zat pendorong pertumbuhan sel (Soedjono dan Kamidjono, 1992).

Caplin dan Steward dalam Gunawan (1988) mendapatkan bahwa antara 2,4-D dan air kelapa terjadi reaksi sinergistik yang memacu pertumbuhan kalus *Daucus carota*. Lebih lanjut, Lin dan Staba dalam Gunawan (1988) menemukan bahwa pada pertumbuhan kalus *peppermint* dan *spermint*, penambahan air kelapa dalam media yang mengandung 2,4-D meningkatkan pertumbuhan kalus.

2.6 Hipotesis

1. Penambahan konsentrasi air kelapa yang berbeda memberikan pengaruh yang berbeda terhadap perkembangan kalus kumis kucing.
2. Penambahan konsentrasi 2,4-D yang berbeda memberikan pengaruh yang berbeda terhadap perkembangan kumis kucing.
3. Terdapat interaksi antara air kelapa dan 2,4-D yang berpengaruh baik terhadap perkembangan kalus kumis kucing.



III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di laboratorim kultur jaringan jurusan Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Jember dan dimulai pada bulan Mei sampai Juli 2000.

3.2 Bahan dan Alat

Alat-alat yang digunakan adalah : Laminer Air Flow Cabinet (LAFC), autoclave, oven, neraca analitik, kompor gas, bunsen, skalpel, pinset, pH meter, handsprayer, panci pemanas, peralatan gelas.

Bahan yang digunakan antara lain : daun kumis kucing, bahan-bahan sterilant, aquadest steril, alkohol, dan spiritus.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) faktorial yang terdiri dari dua faktor perlakuan dengan tiga ulangan. Adapun macam perlakuan adalah sebagai berikut :

1. Faktor konsentrasi air kelapa, yang terdiri dari tiga taraf, yaitu :

A1 = air kelapa 0%

A2 = air kelapa 10 %

A3 = air kelapa 20 %

2. Faktor konsentrasi 2,4-D, yang terdiri dari tiga taraf, yaitu:

B1 = 2,4-D 1 ppm

B2 = 2,4-D 2 ppm

B3 = 2,4-D 3 ppm

Metode matematika dari rancangan yang digunakan menurut Gasper (1989) adalah sebagai berikut :

$$Y_{ijk} = \mu + (A)_i + (B)_j + (AB)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$



Keterangan :

Y_{ijk} = nilai pengamatan karena pengaruh bersama faktor konsentrasi air kelapa taraf ke-i dan faktor konsentrasi 2,4-D pada taraf ke-j pada ulangan ke-k

μ = pengaruh rata-rata umum

(A)_i = pengaruh konsentrasi air kelapa taraf ke-i

(B)_j = pengaruh konsentrasi 2,4-D taraf ke-j

(AB)_{ij} = pengaruh interaksi faktor konsentrasi air kelapa taraf ke-i dan pengaruh konsentrasi 2,4-D pada taraf ke-ij

ϵ_{ijk} = pengaruh galat percobaan ke-k yang mendapat kombinasi perlakuan ke-ij

Analisis data dilakukan dengan menggunakan sidik ragam nyata dilanjutkan dengan uji jarak Duncan 5%.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Sterilisasi Alat

Alat-alat yang perlu disterilkan adalah kertas saring, pinset, scapel, breaker glass, cawan petri, aluminium foil, botol kultur, gelas dan alas tanaman tahan pemanasan autoclave. Sebelum disterilkan, semua alat dicuci bersih dengan detergen. Kemudian alat yang terbuat dari gelas dimasukkan dalam oven selama dua jam dengan suhu 150⁰C, sedangkan alat yang terbuat dari logam dibungkus kertas terlebih dahulu, baru dimasukkan ke dalam oven.

3.4.2 Sterilisasi Eksplan

Daun kumis kucing urutan ke-3 dari pucuk dicuci dengan detergen dan dibersihkan dengan air yang mengalir kemudian direndam dalam aquadest steril. Setelah itu direndam dalam Dithane M-45 (bahan aktif: Mankozeb 80%) 0,2 g/100 ml air selama satu jam. Sterilisasi di dalam laminar air flow cabinet dilakukan dengan merendam daun dalam alkohol 70% selama lima menit. Kemudian eksplan dimasukkan ke dalam larutan betadine selama 5 menit. Kemudian dicuci dengan air steril sebanyak tiga kali. Daun diletakkan di dalam petridish, dipotong dengan ukuran 1 x 0,5 cm kemudian ditanam dalam media perlakuan.

3.5 Parameter Pengamatan

Pengamatan dimulai pada saat eksplan berumur satu hari setelah penanaman sampai umur 45 hari, meliputi parameter-parameter :

1. Saat terbentuknya kalus (hari), dihitung mulai umur satu hari setelah penanaman.
2. Presentasi terbentuknya kalus, dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ terbentuknya kalus} = \frac{\text{jumlah eksplan yang membentuk kalus}}{\text{jumlah semua eksplan}} \times 100\%$$

3. Berat kalus (g), dihitung berdasarkan berat dari kalus yang tumbuh.
4. Warna kalus, ditentukan dengan menggunakan metode secara visual (langsung) berdasarkan pengamatan rata-rata tiga orang dengan ketentuan makin besar nilai makin hijau warnanya.

Tabel 3. Indeks Warna Kalus

Macam Warna	Nilai	Komposisi Warna	
Coklat	1	75% - 100% coklat	0% - 25% putih
Putih kecoklatan	2	50% - 75% putih	25% - 50% coklat
Hijau kecoklatan	3	25% - 50% coklat	50% - 75% hijau
Putih kehijauan	4	50% - 75% putih	25% - 50% hijau
Hijau	5	75% - 100% hijau	0% - 25% putih

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Hasil analisis sidik ragam pada semua perlakuan disajikan dalam tabel 4.

Tabel 4. Rangkuman Hasil Sidik Ragam pada Tiga Parameter

Sumber Keragaman	db	F-hitung			F-Tabel	
		1	2	3	5%	1%
Perlakuan	8	7,099**	4,910**	20,281**	2,51	3,71
Faktor A	2	9,201**	7,703**	43,625**	3,55	6,01
Faktor B	2	7,986**	4,851*	30,875**	3,55	6,01
A x B	4	5,604**	3,544*	3,313*	2,93	4,58

- Keterangan :
- ** = berbeda sangat nyata
 - * = berbeda nyata
 - 1 = saat terbentuknya kalus (hari)
 - 2 = berat kalus (g)
 - 3 = warna kalus
 - A = konsentrasi air kelapa
 - B = konsentrasi 2,4-D

Berdasarkan hasil sidik ragam pada Tabel 4 faktor tunggal konsentrasi air kelapa (A) memberikan hasil berbeda sangat nyata pada parameter saat terbentuknya kalus, berat kalus, dan warna kalus. Faktor tunggal konsentrasi 2,4-D (B) menunjukkan hasil berbeda sangat nyata pada parameter saat terbentuknya kalus dan warna kalus, sedangkan pada parameter berat kalus menunjukkan hasil berbeda nyata. Interaksi kedua faktor (A dan B) menunjukkan hasil berbeda sangat nyata pada parameter saat terbentuknya kalus dan berbeda nyata pada parameter berat kalus dan warna kalus.

Tabel 5. Hasil Uji Duncan 5% pada pengaruh interaksi

Interaksi Perlakuan	1		2		3	
A1B1	21.333	b	2.09	a	3.333	b
A1B2	10.333	a	2.24	a	1.333	a
A1B3	5.667	a	1.997	a	1.333	a
A2B1	5.333	a	4.307	bc	4.000	bc
A2B2	6.333	a	2.437	ab	1.667	a
A2B3	6.000	a	1.577	a	1.333	a
A3B1	10.667	a	5.007	c	4.667	c
A3B2	8.667	a	2.243	a	4.333	bc
A3B3	7.667	a	4.767	c	3.667	bc

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama berarti berbeda tidak nyata pada taraf 5%.

1 = Saat terbentuknya kalus (hari)

2 = Berat kalus (g)

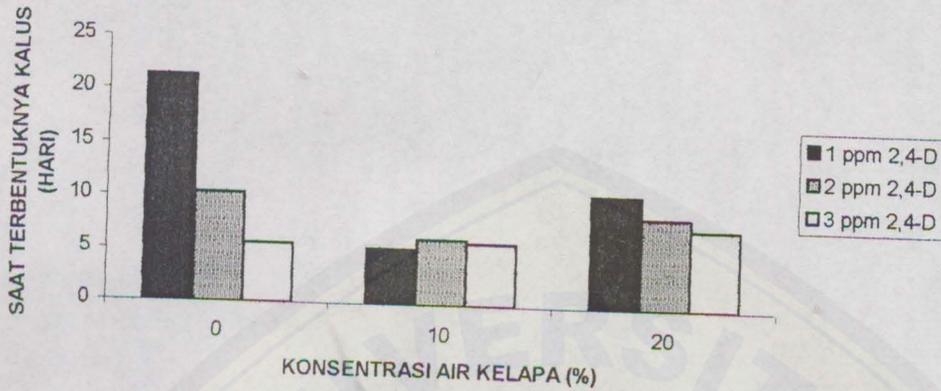
3 = Warna kalus

A = Konsentrasi air kelapa

B = Konsentrasi 2,4-D

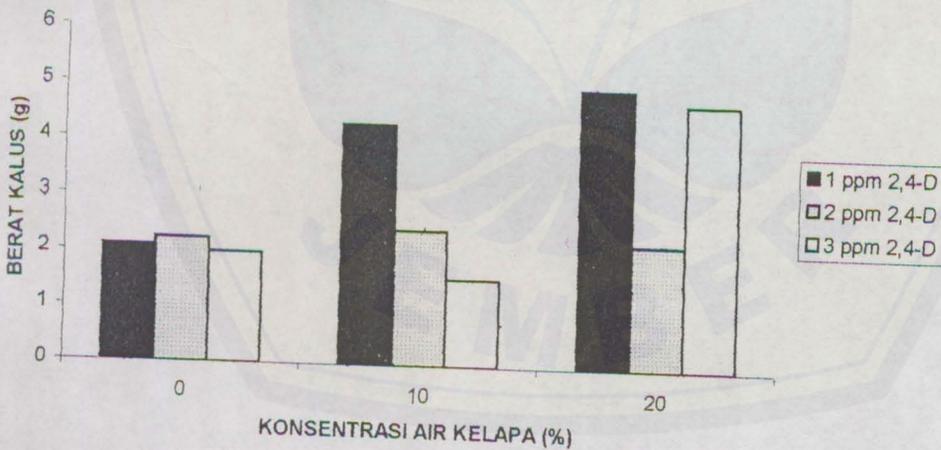
Hasil uji Duncan pada Tabel 5 menunjukkan bahwa pada parameter saat terbentuknya kalus perlakuan A1B1 memberikan hasil berbeda nyata dengan perlakuan yang lainnya. Pada parameter berat kalus, perlakuan A3B1 memberikan rata-rata berat kalus tertinggi walaupun berbeda tidak nyata dengan A3B3 dan A2B1 yang ditunjukkan oleh huruf yang sama. Perlakuan A3B1 berbeda nyata dengan A1B1, A1B2, A1B3, A2B2, A2B3, dan berbeda tidak nyata dengan perlakuan A2B1, A3B2, A3B3 pada parameter warna kalus.

Pengaruh interaksi faktor konsentrasi air kelapa dengan konsentrasi 2,4-D terhadap saat terbentuknya kalus disajikan dalam Gambar 1.



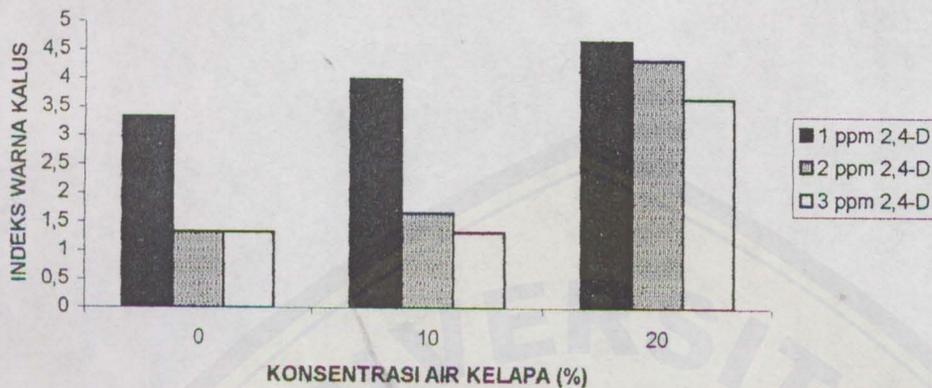
Gambar 1. Histogram Saat Terbentuknya Kalus pada Perimbangan Konsentrasi Air Kelapa dan 2,4-D

Pengaruh interaksi faktor konsentrasi air kelapa dengan konsentrasi 2,4-D terhadap berat kalus disajikan dalam Gambar 2.



Gambar 2. Histogram Berat Kalus pada Perimbangan Konsentrasi Air Kelapa dan 2,4-D

Pengaruh interaksi antara faktor konsentrasi air kelapa dengan konsentrasi 2,4-D terhadap warna kalus disajikan dalam Gambar 3.



Gambar 3. Histogram Warna Kalus pada Perimbangan Konsentrasi Air Kelapa dan 2,4-D

4.2 Pembahasan

4.2.1 Saat Terbentuknya Kalus

Kalus yang terbentuk tidak lepas dari peranan zat pengatur tumbuh yang digunakan. Pemberian 2,4-D memberikan pengaruh yang baik terhadap saat terbentuknya kalus. 2,4-D mempercepat pembelahan sel yang menyebabkan sel terdeferensiasi secara tidak normal, sehingga membentuk kalus. Menurut Sastrowijono (1976), pada umumnya auxin cenderung merangsang pembentukan kalus dalam kultur *in-vitro*, tetapi 2,4-D merupakan hormon tumbuh yang paling potensial untuk merangsang pembentukan kalus.

Penambahan air kelapa sebagai senyawa organik memberikan pengaruh yang baik terhadap saat terbentuknya kalus. Sebagaimana yang diperoleh dari penelitian Mandang (1996), air kelapa mendorong pembentukan kalus pada media yang diberi BAP dan IAA. Pemberian air kelapa menciptakan keseimbangan auksin atau sitokinin yang lebih sesuai untuk pembentukan kalus dibanding pembentukan akar.

Perlakuan A1B1 memberikan respon terlama terhadap saat terbentuknya kalus (Gambar 1). Hal ini disebabkan pada media hanya ditambahkan 1 ppm 2,4-D tanpa diberi air kelapa. Padahal air kelapa mengandung sitokinin yang berperan penting dalam proses pembelahan sel. Fox *dalam* Wilkins (1989) mengemukakan bahwa air kelapa mengandung zat-zat aktif, di antaranya terdapat difenil urea yang merupakan sitokinin endogen. Sitokinin merupakan senyawa yang membentuk dasar adenin (6-amino purine) yang mendukung terjadinya pembelahan sel. Air kelapa selain mengandung sitokinin juga terdapat auksin yang berfungsi dalam pembelahan dan pembesaran sel (Harjadi dan Pamenang, 1981). Sehingga tanpa adanya penambahan air kelapa dalam media yang mengandung 1 ppm 2,4-D menyebabkan pembelahan sel pada eksplan tidak dapat berjalan lebih cepat.

Penambahan air kelapa 10% yang dikombinasikan dengan 2,4-D baik 1 ppm, 2 ppm, ataupun 3 ppm mendorong pembentukan kalus yang lebih cepat dibanding dengan perlakuan tanpa air kelapa dan 20 % air kelapa (Gambar 1). Pemberian air kelapa 10% dalam media yang mengandung 2,4-D mendorong eksplan dapat mengalami pembelahan dan pembesaran sel yang cepat sehingga kalus dapat terbentuk lebih cepat dibanding media tanpa penambahan air kelapa. Sedangkan penambahan air kelapa 20% dalam media yang mengandung 2,4-D menyebabkan kadar auksin juga meningkat sehingga kalus terbentuk lebih lama dibanding penambahan air kelapa 10% karena auksin dapat menghambat pertumbuhan dalam konsentrasi yang tinggi (Abidin, 1985).

Interaksi perlakuan A1B3 dan A2B1 memberikan respon tercepat terhadap saat terbentuknya kalus (Gambar 1), yang mempunyai kemampuan membentuk kalus rata-rata lima hari setelah tanam. Hal ini menunjukkan bahwa tanpa ada penambahan air kelapa dalam media yang mengandung 3 ppm 2,4-D (A1B3) dan 10% air kelapa + 1 ppm 2,4-D (A2B1) dalam media mampu memacu pembelahan sel sehingga kalus dapat cepat terbentuk.

Perlakuan A1B3 memberikan respon lebih baik dari semua perlakuan kecuali A2B1 walaupun dalam media tidak diberikan air kelapa. Hal ini menunjukkan bahwa tanpa adanya air kelapa kalus dapat terbentuk lebih cepat jika dalam media

ditambahkan 2,4-D dengan konsentrasi yang lebih tinggi, yaitu 3 ppm. Sedangkan pada perlakuan A2B1 terjadi keseimbangan antara kedua taraf perlakuan. Sehingga kalus dapat terbentuk lebih cepat dibanding perlakuan yang lain.

4.2.2 Persentase Terbentuknya Kalus

Pembentukan kalus terlebih dahulu terjadi pada bagian tepi eksplan. Akibat pelukaan (pemotongan eksplan), sel-sel pada bagian tepi eksplan banyak yang mengalami kerusakan. Sel-sel yang mengalami kerusakan tapi tidak pecah akan membelah membentuk kalus.

Hasil pengamatan terhadap parameter persentase terbentuknya kalus menunjukkan kalus dapat terbentuk pada semua media perlakuan (Lampiran 7). Transformasi data dengan skala arcsin menunjukkan angka 90,00 (Lampiran 8). Kalus terbentuk pada semua media perlakuan walaupun dalam media ada yang tidak ditambahkan air kelapa yaitu pada perlakuan A1 yang dikombinasikan dengan faktor 2,4-D dengan konsentrasi 1, 2, dan 3 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa zat pengatur tumbuh 2,4-D sesuai untuk merangsang pembentukan kalus. Sastrowijono (1976) menyatakan bahwa 2,4-D merupakan hormon tumbuh yang paling potensial untuk merangsang pembentukan kalus. Sehingga walaupun tanpa adanya air kelapa dalam media, kalus dapat terbentuk.

Kehadiran auksin dalam hal ini 2,4-D mempercepat pembelahan sel sehingga kalus dapat terbentuk. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan auksin 2,4-D secara sendiri maupun yang dikombinasikan dengan air kelapa 10% dan 20% dapat merangsang pembentukan kalus. Hal ini didukung pernyataan Karsinah (1991) bahwa penggunaan 2,4-D untuk merangsang pembentukan kalus telah terbukti pada kultur beberapa tanaman berkayu seperti coklat, karet, dan jeruk.

Namun tanpa adanya penambahan air kelapa dalam media yang mengandung 2,4-D kalus terbentuk lebih lama dibandingkan dengan media yang ditambah air kelapa kecuali pada perlakuan A1B3. Adanya penambahan air kelapa dapat mempercepat eksplan dalam membentuk kalus. Mandang (1995) menyatakan bahwa penambahan air kelapa berarti terjadi penambahan berbagai bahan seperti asam

amino, asam organik, gula, gula alkohol, hara, serta zat tumbuh seperti sitokinin dan auksin. Sehingga dengan adanya penambahan air kelapa dalam media yang mengandung 2,4-D menyebabkan kalus dapat terbentuk cepat sehingga persentase terbentuknya kalus menjadi tinggi pula.

Perlakuan A2B1 dan A1B3 memberikan respon yang lebih baik dibanding perlakuan yang lain. Walaupun persentase kedua perlakuan tersebut sama dengan yang lain, kedua perlakuan tersebut mampu membentuk kalus lebih cepat dibanding dengan perlakuan yang lain (Gambar 1).

Perlakuan A1B1 memberikan respon kurang baik karena kalus terbentuk paling lama dibanding perlakuan yang lain (Gambar 1), yang baru terbentuk pada hari ke-21,333 hari setelah tanam. Hal ini disebabkan tidak ada penambahan air kelapa dalam media yang mengandung 1 ppm 2,4-D. Jadi, walaupun persentase terbentuknya kalus 100% tetapi membutuhkan waktu relatif lebih lama dibanding perlakuan yang lainnya.

4.2.3 Berat Kalus

Proses pembentukan kalus tidak terlepas dari pembelahan, pembesaran, dan perpanjangan sel. 2,4-D yang termasuk golongan auksin berperan dalam pembelahan, pembesaran, atau perpanjangan sel, sehingga auksin dapat meningkatkan permeabilitas dinding sel. Akibatnya air, ion-ion anorganik, dan molekul-molekul anorganik masuk ke dalam sel. Cleland dan Brustrum dalam Abidin (1985) menyatakan bahwa auksin mendukung peningkatan permeabilitas masuknya air, ion-ion anorganik, dan molekul-molekul anorganik ke dalam sel. Akibatnya terjadi peningkatan berat kalus.

Air kelapa mengandung sitokinin yang berperan dalam proses pembelahan sel. Seperti yang dikemukakan oleh Fox dalam Wilkins (1989) bahwa air kelapa mengandung zat-zat aktif, di antaranya terdapat difenil urea yang merupakan sitokinin endogen. Sitokinin merupakan senyawa yang membentuk dasar adenin (6-amino purine) yang mendukung terjadinya pembelahan sel.

Di samping itu, penambahan air kelapa dalam media MS berarti meningkatkan kandungan gula dalam media. Menurut Mandang (1996), air kelapa mengandung gula total 28,5 g/l. Peningkatan kandungan gula dalam media ini berpengaruh terhadap pembentukan kalus. Menurut Harjadi (1979), laju pembelahan sel dan pembesaran sel tergantung pada persediaan karbohidrat dalam bentuk gula yang cukup untuk membuat sel-sel baru. Pemberian gula dalam konsentrasi yang lebih tinggi mendorong eksplan untuk melakukan pembelahan dan pembesaran sel sehingga pembentukan kalus menjadi lebih cepat terjadi.

Adanya proses pembelahan dan pembesaran sel yang terus menerus menyebabkan jumlah dan besar sel bertambah sehingga berat kalus menjadi meningkat pula. Hal ini tidak terlepas dari fungsi gula sebagai sumber energi yang berperan penting dalam kultur jaringan yang belum mampu melakukan fotosintesis untuk menghasilkan gula yang dibutuhkan untuk pertumbuhan eksplan (Mandang, 1996).

Gambar 2. menunjukkan pertambahan berat dengan adanya penambahan air kelapa yang dikombinasi dengan 1 ppm 2,4-D. Interaksi 1 ppm dengan 20% air kelapa (A3B1) memberikan berat yang paling besar dibanding interaksi lainnya walau berbeda tidak nyata dengan A2B1 dan A3B3. Hal ini menunjukkan adanya keseimbangan diantara kedua perlakuan untuk menghasilkan berat kalus yang terbesar.

Adanya peningkatan konsentrasi auksin (Gambar 2) menyebabkan terjadi penurunan berat kalus. Hal ini diduga pengaruh 2,4-D menekan pembentukan kalus pada konsentrasi yang lebih tinggi, yaitu 2 dan 3 ppm 2,4-D. Menurut Isbandi (1983), kadar auksin yang tinggi pengaruhnya pada jaringan yang sedang tumbuh lebih menekan pertumbuhan daripada merangsangnya. Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh Latif (1990) bahwa 2,4-D dapat menekan pembentukan kalus. Hal ini disebabkan auksin (2,4-D) pada kadar tinggi akan berfungsi sebagai herbisida. Namun dengan adanya peningkatan konsentrasi air kelapa (20%) ternyata menunjukkan peningkatan berat kalus kecuali pada interaksi 20% air kelapa dengan 2 ppm 2,4-D. Kondisi ini menunjukkan air kelapa yang mengandung sitokinin dapat

menghilangkan penekanan auksin. Adanya penambahan air kelapa sebesar 20% mampu mendorong kalus terbentuk lebih banyak pada media yang mengandung 3 ppm 2,4-D sehingga berat kalus cenderung lebih besar.

Pada konsentrasi 2 ppm 2,4-D dan air kelapa 20% menunjukkan hasil berbeda tidak nyata dengan A1B1 dan A2B2, tetapi dapat membentuk kalus berwarna hijau dengan cepat (Tabel 5). Hasil yang diperoleh ini diduga karena ada pengaruh dari umur fisiologi eksplan. Menurut Gunawan (1988), kemampuan pembentukan kalus dipengaruhi oleh umur fisiologi dari jaringan waktu diisolasi, musim pada waktu bahan tanam diisolasi, bagian tanaman yang dipakai, dan jenis tanaman. Terbentuknya daun ketiga dari pucuk tidak secara bersama-sama sehingga umur daun tersebut juga berbeda walau letaknya sama. Adanya perbedaan umur fisiologi dari eksplan menyebabkan respon terhadap interaksi air kelapa dan 2,4-D menjadi berbeda. Daun yang lebih tua umur fisiologisnya lebih sulit untuk dediferensiasi dan menghasilkan kalus dibandingkan daun yang muda. Adanya auksin dan sitokinin memberikan respon yang mendukung pertumbuhan kalus. Pemberian sitokinin bersama-sama dengan auksin memberikan kondisi yang sesuai untuk pertumbuhan kalus.

4.2.4 Warna Kalus

Perlakuan A3B1 memberikan respon terbaik terhadap warna kalus yang terbentuk. Warna kalus yang terbentuk pada A3B1 (Gambar 3.) menunjukkan angka antara 4,5 – 5. Indeks angka ini menunjukkan bahwa kalus yang terbentuk rata-rata hijau. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan air kelapa sebesar 20% dan 1 ppm 2,4-D dapat mendorong pertumbuhan kalus yang lebih baik, dimana diperoleh kalus yang teksturnya kompak dan berwarna hijau.

Warna hijau terjadi karena adanya klorofil. Penambahan 2,4-D dan air kelapa dalam media mendorong pembentukan klorofil. Hal ini karena air kelapa dan 2,4-D berperan penting dalam pembentukan klorofil pada kalus.

2,4-D merupakan zat pengatur tumbuh golongan auksin. Fungsi 2,4-D dalam pembentukan klorofil adalah berperan dalam sintesis protein. Menurut Aoki dan Hase dalam Isbandi (1983), pembentukan klorofil memerlukan adanya sintesis protein.

Air kelapa berperan penting dalam pembentukan klorofil. Penambahan air kelapa meningkatkan kandungan klorofil. Hal ini disebabkan air kelapa mengandung faktor-faktor pembentuk klorofil, yaitu mineral K, Mg, Fe, dan Cu. Menurut Dwijoseputro (1988), pembentukan klorofil dipengaruhi faktor genetik, cahaya, oksigen, karbohidrat, air, temperatur, kandungan mineral, dan auksin endogen. Hal ini juga dipertegas oleh Abidin (1985) bahwa faktor pembentuk klorofil dipengaruhi oleh kandungan mineral yang ada dalam media tumbuhnya, yaitu Fe, Mn, K, Zn, Cu, Mg, dan N. Berdasarkan pernyataan tersebut berarti dengan adanya penambahan konsentrasi air kelapa maka kandungan mineral dan karbohidrat dalam bentuk gula yang ada dalam media menjadi bertambah. Hal ini mendorong terjadinya peningkatan pembentukan klorofil pada kalus yang terbentuk. Hasil ini juga ditunjang dari hasil penelitian yang diperoleh Mandang.dkk (1997) pada tanaman krisan secara *in-vitro* yaitu penambahan air kelapa meningkatkan kandungan klorofil daun.

Perlakuan yang memberikan respon terendah terdapat pada interaksi A1B2, A1B3, dan A2B3. Warna kalus yang terbentuk pada ketiga perlakuan menghasilkan warna coklat. Pada ketiga perlakuan diberikan konsentrasi 2,4-D yang relatif tinggi, yaitu 2 ppm dan 3 ppm dalam media yang tidak diberi air kelapa dan media dengan penambahan air kelapa 10%.

Hal ini menunjukkan tanpa adanya penambahan air kelapa ataupun dengan pemberian air kelapa 10% dalam media yang mengandung konsentrasi 2,4-D relatif tinggi (2 dan 3 ppm) menyebabkan kalus yang terbentuk akan cenderung menghasilkan warna coklat. Warna coklat yang terbentuk diduga disebabkan terjadinya oksidasi senyawa fenol. Menurut Wilkins (1989), DNA setelah mengalami oksidasi mampu menghasilkan senyawa fenol dalam jaringan tanaman. Lebih lanjut, Gati dan Mariska (1989) menyatakan bahwa senyawa fenol tersebut mengalami oksidasi akan mengakibatkan warna coklat pada kultur.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian kultur *in-vitro* kumis kucing pada penambahan konsentrasi air kelapa dan 2,4-D, maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Interaksi antara konsentrasi air kelapa dan 2,4-D berpengaruh sangat nyata terhadap saat terbentuknya kalus, berpengaruh nyata terhadap berat dan warna kalus, dan berbeda tidak nyata terhadap persentase terbentuknya kalus.
2. Konsentrasi 20% air kelapa dengan 1 ppm 2,4-D memberikan hasil yang baik terhadap pembentukan kalus kumis kucing.

5.2 Saran

Dalam pengembangan teknik budidaya tanaman kumis kucing secara *in-vitro* perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai komposisi media dan zat pengatur tumbuh yang sesuai untuk induksi tunas dan akar, serta kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam kalus kumis kucing.

DAFTAR PUSTAKA

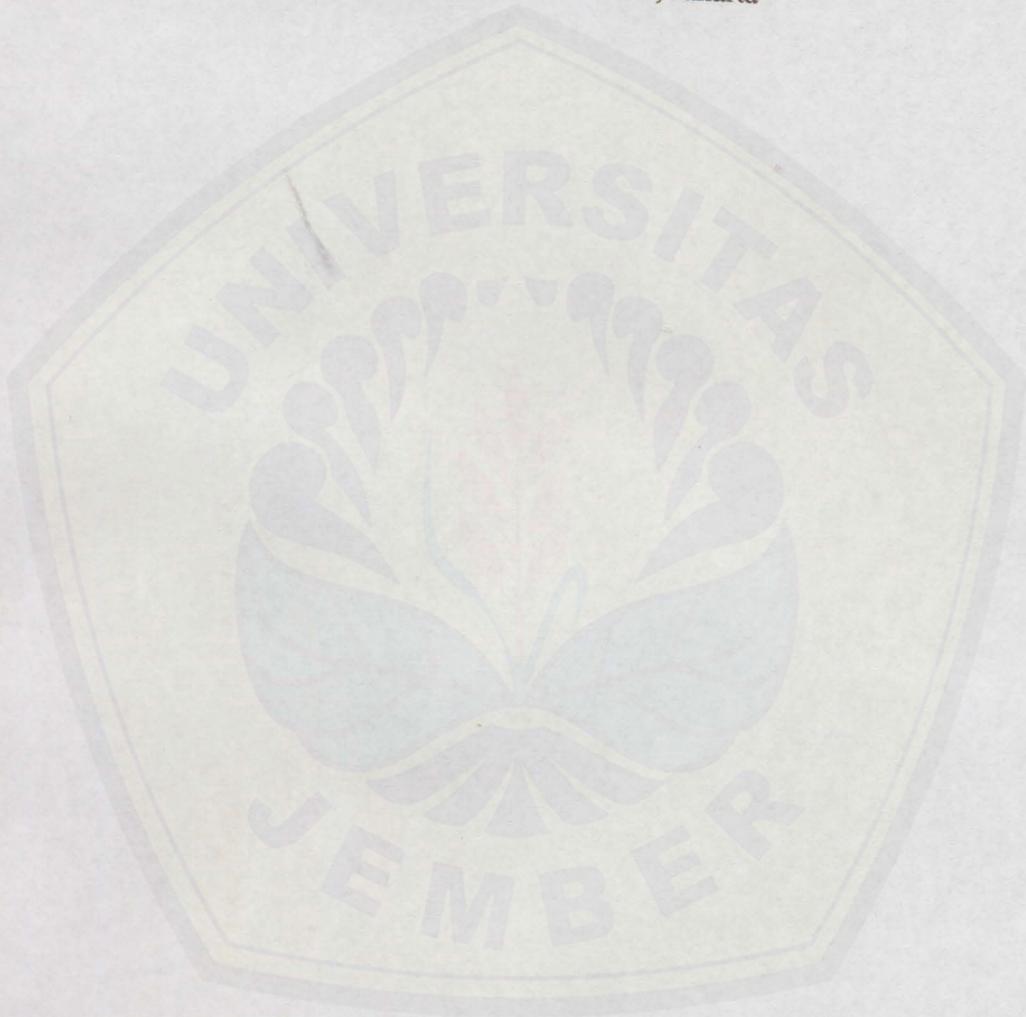
- Abidin.Z, 1985, *Dasar-Dasar Pengetahuan tentang Zat Pengatur Tumbuh*, Angkasa, Bandung
- Ariyanti.E.E, 1998, "Kumis Kucing (*Orthosiphon aristatus* (Blume)Miq.) Bahan Obat Tradisional", Dalam *Warta Kebun Raya* 2 (3) September 1998
- Darwis.S.N., 1989, "Strategi Penelitian Bioteknologi Tanaman industri", Dalam *Edisi Khusus LITTRO* Vol.V No.2, Balitro, Bogor
- Dharma.A.P., 1985, *Tanaman Obat Tradisional Indonesia*, Balai Pustaka, Jakarta
- Dwidjoseputro.D., 1988, *Pengantar Fisiologi Tumbuhan*, PT.Gramedia, Jakarta
- Gasper.V., 1991, *Metode Perancangan Percobaan untuk Ilmu-Ilmu Pertanian, Teknik, Biologi*, Penerbit CV. Armico, Bandung
- Gati.E. dan I.Mariska, 1989, "Perkembangan Penelitian Bioteknologi Kultur Jaringan Tanaman Penghasil Minyak atsiri", Dalam *Edisi Khusus Littro* Vol.V No. 2, Balitro, Bogor
- Gunawan.D., 1999, *Ramuan Tradisional untuk Keharmonisan Suami- Istri*, Penebar Swadaya, Jakarta
- Gunawan.L.W., 1988, *Teknik Kultur Jaringan*, Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman PAU Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Harjadi dan Pamenang, 1981, "Pengaruh Sukrosa dan Air Kelapa pada Kultur Anggrek", Dalam *Bulletin Agronomi* XIV (1), Bogor
- Harjadi.M.M.S.S., 1979, *Pengantar Agronomi*, PT. Gramedia, Jakarta
- Hartatik.S., 1987, *Kultur Jaringan dan Manfaatnya pada Tanaman Perkebunan*, Laporan Hasil (Belum Diterbitkan) pada Seminar Juli 1987 Fakultas Pertanian Universitas Jember, Jember
- Hendaryono.D.P.S. dan A.Wijayani., 1994, *Teknik Kultur Jaringan*, Kanisius, Yogyakarta
- Isbandi.D., 1983, *Pertumbuhan dan Perkembangan Tanaman*, Departemen Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

- Karsinah, E.Nazir dan Winarno, 1991, "Pengaruh Perbandingan Auksin dan Sitokinin terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Eksplan Mangga secara Kultur In-Vitro, Dalam *Penelitian Hortikultura* Vol 4 No.3
- Latif.S., 1990, "Pengaruh Zat Pengatur Auksin dan Sitokinin terhadap Pembentukan dan Kandungan Nikotin Kalus Daun *Nicotiana tabacum L*", Dalam *Buletin Pertanian* Vol.9 No.2, Medan
- Mandang.J.P., 1995, "Air Kelapa sebagai Bahan Substitusi Media MS pada Kultur Jaringan Krisan", Dalam *Eugenia* 1(1) : 1-11
- , 1996, "Penggunaan Air Kelapa sebagai Bahan Substitusi Sebagian Sukrosa dalam Media Kultur Jaringan Krisan", Dalam *Eugenia* 2(1) : 8-13
- , 1997, "Penggunaan Air Kelapa dan Bahan Pengganti Agar Murni pada Kultur In-Vitro Anggrek *Dendrobium sp*", Dalam *Eugenia* 4(1) : 6-12
- , S.Rondonuwum L. dan M. Mait, 1997, "Pengaruh Air Kelapa dan Sukrosa terhadap Pertumbuhan Protocorm Anggrek *Dendrobium sp in-vitro*", Dalam *Eugenia* 3(3) : 114-119
- Moko.H., D.Soleh E., S.M.D.Rosita, E.M. Rahmat dan M.Herry, 1995, "Penelitian Pemupukan, Zat Pengatur Tumbuh, dan Pemanenan terhadap Pertumbuhan dan Hasil Kumis Kucing dan Adas", Dalam *Laporan Teknis Penelitian Penguasaan Teknologi Tanaman Rempah dan Obat Cimanggu*, Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat, Bogor
- Rukmana. R, 1995, *Kumis Kucing*, Penerbit Kanisius, Yogyakarta
- Sastriwijono.S, 1976, *Tissu Culture* pada Tanaman Tebu di Indonesia, Dalam *Majalah Perusahaan Gula* 12(2) : 77-83
- Soedjono.S. dan Kamidjono, 1992, "Penggunaan Medium Pupuk Daun dan Konsentrasi Air Kelapa bagi Pertumbuhan Protocorm Anggrek *Dendrobium ekapol Panda In-Vitro*", Dalam *Jurnal Hortikultura* 2(1), Jakarta
- Tampubolon.O.T., 1995, *Tumbuhan obat*, Bharata, Jakarta
- Wattimena.G.A., 1988, *Zat Pengatur Tumbuh*, Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman Pau Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Wetherell.D.F., 1982, *Pengantar Propagasi Tanaman secara In-Vitro*, Fakultas Farmasi universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

Wetter.L.R. dan Constabel.F., 1991, *Metode Kultur Jaringan*, Institut Teknologi Bandung, Bandung

Wibowo.S., 1999, "Mutu Rendah : Nasib Kumis Kucing Menyedihkan", Dalam *Trubus* No.359 Edisi Oktober 1999 – TH.XXX

Wilkins.M.B., 1989, *Fisiologi Tanaman I*, Bina Aksara, Jakarta



Lampiran 1. Data Saat Terbentuknya Kalus (hari)

Kombinasi perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	I	II	III		
A1B1	25	26	13	64	21,333
A1B2	13	12	6	31	10,333
A1B3	5	6	6	17	5,667
A2B1	6	5	5	16	5,333
A2B2	7	7	5	19	6,333
A2B3	6	6	6	18	6,000
A3B1	14	12	6	32	10,667
A3B2	6	11	9	26	8,667
A3B3	9	6	8	23	7,667
Total	91	91	64	246	

Lampiran 2. Sidik Ragam Saat Terbentuknya Kalus

SK	db	JK	KT	F-hitung	F-5%	F-1%
Perlakuan	8	597,3	74,67	7,10**	2,51	3,7
A	2	193,6	96,78	9,20**	3,55	6
B	2	168,0	84,00	7,99**	3,55	6
AB	4	235,8	58,95	5,60**	2,93	4,6
Galat	18	189,3	10,52			
Total	26	786,7				

Keterangan : ** = Berbeda sangat nyata

Lampiran 3. Data Berat Kalus (g)

Kombinasi perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	I	II	III		
A1B1	0,72	1,94	3,61	6,27	2,090
A1B2	3,9	1,36	1,46	6,72	2,240
A1B3	1,59	1,7	2,7	5,99	1,997
A2B1	4,8	3,31	4,81	12,92	4,307
A2B2	1,45	4,03	1,83	7,31	2,437
A2B3	1,84	1,83	1,06	4,73	1,577
A3B1	6,26	3,82	4,94	15,02	5,007
A3B2	2,56	1,75	2,42	6,73	2,243
A3B3	5,68	4,35	4,27	14,3	4,767
Total	28,8	24,09	27,1	79,99	

Lampiran 4. Sidik Ragam Berat Kalus

SK	Db	JK	KT	F-hitung	F-5%	F-1%
Perlakuan	8	42,51	5,31	4,91**	2,51	3,71
A	2	16,67	8,34	7,70**	3,55	6,01
B	2	10,50	5,25	4,85*	3,55	6,01
AB	4	15,34	3,83	3,54*	2,93	4,58
Galat	18	19,48	1,08			
Total	26	61,99				

Keterangan : ** = Berbeda sangat nyata
 * = Berbeda nyata

Lampiran 5. Data Warna Kalus

Kombinasi perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	I	II	III		
A1B1	4	3	3	10	3,333
A1B2	1	2	1	4	1,333
A1B3	2	1	1	4	1,333
A2B1	4	4	4	12	4,000
A2B2	2	2	1	5	1,667
A2B3	1	2	1	4	1,333
A3B1	5	5	4	14	4,667
A3B2	5	4	4	13	4,333
A3B3	4	4	3	11	3,667
Total	28	27	22	77	

Lampiran 6. Sidik Ragam Warna Kalus

SK	db	JK	KT	F-hitung	F-5%	F-1%
Perlakuan	8	48,1	6,01	20,28**	2,51	3,71
A	2	25,9	12,9	43,62**	3,55	6,01
B	2	18,3	9,15	30,88**	3,55	6,01
AB	4	3,93	0,98	3,31*	2,93	4,58
Galat	18	5,33	0,3			
Total	26	53,4				

Keterangan : ** = Berbeda sangat nyata
 * = Berbeda nyata

Lampiran 7. Data Persentase Terbentuknya Kalus

Kombinasi Perlakuan	% Terbentuknya Kalus pada Ulangan ke-			Total	Rata-rata
	I	II	III		
A1B1	100,00	100,00	100,00	300,00	100,00
A1B2	100,00	100,00	100,00	300,00	100,00
A1B3	100,00	100,00	100,00	300,00	100,00
A2B1	100,00	100,00	100,00	300,00	100,00
A2B2	100,00	100,00	100,00	300,00	100,00
A2B3	100,00	100,00	100,00	300,00	100,00
A3B1	100,00	100,00	100,00	300,00	100,00
A3B2	100,00	100,00	100,00	300,00	100,00
A3B3	100,00	100,00	100,00	300,00	100,00

Lampiran 8. Transformasi Data dari Lampiran 7. Didasarkan pada Transformasi Arcsin

Kombinasi Perlakuan	Terbentuknya Kalus (skala arcsin)			Total	Rata-rata
	I	II	III		
A1B1	90,00	90,00	90,00	270,00	90,00
A1B2	90,00	90,00	90,00	270,00	90,00
A1B3	90,00	90,00	90,00	270,00	90,00
A2B1	90,00	90,00	90,00	270,00	90,00
A2B2	90,00	90,00	90,00	270,00	90,00
A2B3	90,00	90,00	90,00	270,00	90,00
A3B1	90,00	90,00	90,00	270,00	90,00
A3B2	90,00	90,00	90,00	270,00	90,00
A3B3	90,00	90,00	90,00	270,00	90,00