



**EFEKTIFITAS NATRIUM HIPOKLORIT PADA STERILISASI
EKSPLAN DAUN TUMBUHAN KEMIRI
(*Aleurites moluccana* (L). Willd)**

SKRIPSI

Oleh
Desi Lutfiyani
NIM 141810401011

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2018**



**EFEKTIFITAS NATRIUM HIPOKLORIT PADA STERILISASI
EKSPLAN DAUN TUMBUHAN KEMIRI
(*Aleurites moluccana* (L.) Willd)**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Biologi (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Sains

Oleh
Desi Lutfiyani
NIM 141810401011

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2018**

PERSEMBAHAN

Dengan menyebut nama Allah SWT yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang, penulis persembahkan skripsi ini dengan segala cinta kasih kepada:

1. Kedua orangtuaku, Ibu Endang Hartini dan Bapak Yuli Budi Hartono, terimakasih atas limpahan doa, kasih sayang dan dukungan yang tiada henti;
2. Kakak dan adik tercinta, Devi Isnaya dan Nabilah Fairuz Zahra terimakasih atas perhatian dan motivasinya;
3. Semua guru yang telah mendidik dari Taman Kanak-kanak hingga Sekolah Menengah Atas, serta dosen-dosen di perguruan tinggi terimakasih yang tak terhingga atas ilmu dan pelajaran hidup yang telah diberikan;
4. Almamater Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember;
5. Teman, sahabat dan saudara terimakasih atas bantuan dan semangat yang diberikan.

MOTO

“Aku tidak membebani seseorang melainkan sesuai kesanggupan”

((Al-Baqarah ayat 286)*)

“Karena sesungguhnya, sesudah kulitan itu ada kemudahan”

((Al-Insyirah ayat 5)*)



*) Departemen Agama Republik Indonesia. 1998. *Al Qur'an dan Terjemahannya*. Semarang: PT Kumudasmoro Grafindo.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Desi Lutfiyani

NIM : 141810401011

menyatakan dengan sebenarnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Efektivitas Natrium Hipoklorit Pada Sterilisasi Eksplan Daun Tumbuhan Kemiri (*Aleurites moluccana* (L). Willd)” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institut mana pun, dan bukan karya jiplakan. Penelitian didanai sepenuhnya oleh Proyek ICCTF (*Indonesia Climate Change Trust Fund*). Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia menerima sanksi akademik jika di kemudian hari pernyataan yang saya tulis ini terbukti tidak benar.

Jember, 29 Agustus 2018

Yang menyatakan,

Desi Lutfiyani

NIM 141810401011

SKRIPSI

**EFEKTIFITAS NATRIUM HIPOKLORIT PADA STERILISASI
EKSPLAN DAUN TUMBUHAN KEMIRI
(*Aleurites moluccana* (L.) Willd)**

Oleh

Desi Lutfiyani
NIM 141810401011

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dra. Hari Sulistiyowati, M.Sc., Ph.D.

Dosen Pembimbing Anggota : Tri Ratnasari, S.Si., M.Si.

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul “Efektivitas Natrium Hipoklorit Pada Sterilisasi Eksplan Daun Tumbuhan Kemiri (*Aleurites moluccana* (L). Willd)” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember pada:

hari, tanggal :

tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember

Tim Penguji:

Ketua,

Anggota I,

Dra. Hari Sulistiyowati, M.Sc., Ph.D.
NIP 196501081990032002

Tri Ratnasari, S.Si., M.Si.
NIP 760016770

Anggota II,

Anggota III,

Dra. Dwi Setyati, M.Si.
NIP 196404171991032001

Syubbanul Wathon, S.Si., M.Si.
NIP 760016783

Mengesahkan
Dekan,

Drs. Sujito, Ph.D.
NIP 196102041987111001

RINGKASAN

Efektivitas Natrium Hipoklorit Pada Sterilisasi Eksplan Daun Tumbuhan Kemiri (*Aleurites moluccana* (L.) Willd); Desi Lutfiyani; 141810401011; 2018; 29 Halaman; Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Kemiri adalah tumbuhan endemik flora malesiana yang merupakan salah satu tumbuhan *Multi Purpose Tree Species (MPTS)* atau tumbuhan multi guna yang menghasilkan biji, buah, bunga, batang dan daun untuk fungsi ekonomi. Selama ini budidaya kemiri secara generatif membutuhkan waktu perkecambahan yang lama sekitar 30-35 hari karena biji kemiri memiliki struktur kulit yang keras dan tebal. Upaya alternatif untuk mengatasi kendala tersebut yaitu melakukan perbanyakan tumbuhan secara vegetatif melalui kultur *in vitro*. Kultur *in vitro* merupakan suatu metode untuk mengisolasi bagian tumbuhan seperti sel, jaringan dan organ serta menumbuhkannya menjadi tumbuhan utuh dalam kondisi lingkungan yang aseptis.

Salah satu faktor yang mempengaruhi keberhasilan kultur *in vitro* yaitu ada tidaknya kontaminasi mikroorganisme pada media maupun eksplan. Kontaminasi yang paling sulit dikendalikan adalah mikroorganisme pada eksplan. Sumber kontaminasi yang terdapat pada eksplan dapat dihilangkan dengan cara melakukan sterilisasi eksplan. Salah satu bahan kimia yang umum digunakan untuk sterilisasi eksplan yaitu Natrium Hipoklorit (NaClO). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui konsentrasi dan lama perendaman NaClO yang efektif untuk sterilisasi eksplan daun kemiri.

Penelitian ini menggunakan dua faktor perlakuan. Faktor pertama yaitu konsentrasi NaClO terdiri empat taraf: K0 = kontrol; K1 = 1%; K2 = 2%; dan K3 = 3%. Faktor kedua lama perendaman NaClO terdiri tiga taraf: L1 = 2,5 menit; L2 = 5 menit; dan L3 = 7,5 menit. Eksplan yang digunakan daun muda kemiri berumur 1 – 2 minggu. Media pertumbuhan eksplan yang digunakan yaitu media *Woody Plant Medium (WPM)* dengan penambahan hormon auksin berupa 2,4 D

konsentrasi 0,5 ppm. Data dianalisis secara deskriptif kualitatif berdasarkan tiga parameter pengamatan yaitu eksplan terkontaminasi, waktu munculnya kalus dan eksplan yang membentuk kalus.

Penggunaan NaClO untuk sterilisasi eksplan daun tumbuhan kemiri efektif pada konsentrasi 1% dengan lama perendaman 2,5 menit (K1L1). Kombinasi perlakuan tersebut mampu menurunkan persentase kontaminasi sampai 0%, menginduksi kalus lebih cepat selama 17 HST dibandingkan dengan perlakuan K2L3 19 HST dan K2L2 25 HST dan juga memiliki persentase pertumbuhan kalus sebesar 33,3%. Sterilisasi eksplan dengan disertai penggunaan NaClO mampu mencegah kontaminasi namun perlu diperhatikan konsentrasinya karena sifatnya yang fitotoksik terhadap jaringan tumbuhan.

PRAKATA

Puji Syukur kehadirat Allah SWT. atas segala rahmat dan Karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Efektivitas Natrium Hipoklorit Pada Sterilisasi Eksplan Daun Tumbuhan Kemiri (*Aleurites moluccana* (L.) Willd)”. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan program strata satu (S1) pada Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, sehingga penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Dosen pembimbing utama Dra. Hari Sulistiyowati, M.Sc., Ph.D., dosen pembimbing anggota Tri Ratnasari, S.Si., M.Si., dosen penguji saya Dra. Dwi Setyati, M.Si. dan Syubbanul Wathon, S.Si., M.Si. yang telah memberikan ilmu, saran, kritik dan bimbingan yang sangat bermanfaat;
2. Dr. Retno Wimbaningrum, M.Si selaku dosen pembimbing akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
3. ICCTF (*Indonesia Climate Change Trust Fund*) yang telah mendanai penelitian ini;
4. Ibu, bapak, kakak, adik dan seluruh keluarga yang telah memberikan banyak do'a, motivasi, materi, dan dukungan yang tiada henti;
5. Sahabat-sahabat terdekat saya, Siti Erlinkha, Dwi Ayu Nur Isadatul Ilmiyah, Khustusia Niranda Trisnawati, Putri Yulia Pramesti, Khoiruz Zulfa, Azizah dan sahabat-sahabat angkatan 2014 (Bivalvia) terima kasih terhadap dukungan, doa dan semangat untuk saya;
6. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis mohon maaf apabila terdapat kesalahan penulisan. Penulis juga menerima kritik dan saran yang membangun dari dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Jember, 29 Agustus 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN.....	vi
HALAMAN PENGESAHAN.....	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan.....	3
1.4 Manfaat.....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Kemiri (<i>Aleurites moluccana</i> (L). Willd).....	4
2.1.1 Taksonomi dan Morfologi Kemiri.....	4
2.1.2 Habitat dan Persebaran Kemiri	6
2.2 Kultur Jaringan <i>In Vitro</i>	7
2.2.1 Pengertian dan Manfaat Kultur <i>in vitro</i>	7
2.2.2 Faktor - Faktor yang Mempengaruhi Keberhasilan Kultur <i>In Vitro</i>	8
2.3 Natrium Hipoklorit (NaClO)	10
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	12
3.1 Waktu dan Tempat.....	12
3.2 Alat dan Bahan.....	12
3.2.1 Alat.....	12
3.2.2 Bahan	12

3.3 Prosedur Penelitian.....	12
3.3.1 Rancangan Penelitian.....	12
3.3.2 Persiapan Bahan Tanam.....	13
3.3.3 Sterilisasi Alat, Media Tanam dan <i>Laminar Air Flow</i> (LAF) 13	
3.3.4 Pembuatan dan Sterilisasi Media Tanam.....	14
3.3.5 Sterilisasi Eksplan dan Penanaman.....	14
3.4 Parameter Pengamatan.....	15
3.5 Analisis Data.....	16
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	17
4.1 Eksplan yang Terkontaminasi.....	17
4.2 Waktu Munculnya Kalus.....	19
4.3 Eksplan yang Membentuk Kalus.....	20
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	23
5.1 Kesimpulan.....	23
5.2 Saran.....	23
DAFTAR PUSTAKA.....	24
LAMPIRAN.....	29

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Pohon kemiri	5
2.2 <i>Aleurites moluccana</i> L	6
3.1 Daun muda kemiri berumur 1 minggu	13
4.1 Persentase eksplan yang terkontaminasi pada 4 MST	17
4.2 Eksplan terkontaminasi bakteri (a) dan jamur (b).....	18
4.3 Morfologi eksplan	19
4.4 Persentase eksplan yang membentuk kalus pada 4 MST.....	20

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Aleurites moluccana (L). Willd atau lebih dikenal dengan nama kemiri, merupakan tumbuhan endemik flora malesiana yang sudah diintroduksi ke beberapa negara di Kepulauan Pasifik (Elevitch dan Manner, 2006). Kemiri adalah salah satu tumbuhan hutan yang memiliki fungsi ekologi dalam perbaikan lingkungan hutan dan menjadi pendukung peningkatan ekonomi alternatif bagi masyarakat. Jenis ini juga termasuk ke dalam tumbuhan *Multi Purpose Tree Species (MPTS)* atau tumbuhan multi guna yang dapat dimanfaatkan buah, bunga, batang, dan daunnya. Menurut Husain dan Tuiyo (2012), kemiri dapat dimanfaatkan untuk berbagai kebutuhan, yaitu bijinya sebagai bahan media penerangan, bumbu masak dan obat diare, kayunya untuk bahan perabotan, minyaknya untuk obat penyubur rambut, kulit kayunya sebagai obat tumor, serta masih banyak lagi manfaatnya. Oleh karena itu, *Aleurites moluccana* (L). Willd patut untuk dibudidayakan.

Budidaya tumbuhan kemiri secara generatif masih menemui banyak kendala antara lain, ketersediaan sumber bahan tanam (biji) yang dipengaruhi oleh musim, membutuhkan tempat perbanyakan yang luas, bibit yang dihasilkan jumlahnya terbatas dan membutuhkan waktu yang lama dengan proses perkecambahan minimal satu bulan. Hal ini didukung oleh pernyataan Simamora dkk. (2015) bahwa proses perkecambahan biji kemiri membutuhkan waktu sekitar 30 - 35 hari karena biji kemiri memiliki struktur kulit yang keras dan tebal sehingga permeabilitasnya rendah. Upaya alternatif untuk mengatasi kendala tersebut yaitu melakukan perbanyakan tumbuhan secara vegetatif melalui kultur *in vitro*.

Kultur *in vitro* merupakan suatu metode untuk mengisolasi bagian tumbuhan seperti sel, jaringan dan organ serta menumbuhkannya menjadi tumbuhan utuh dalam kondisi lingkungan yang aseptis. Teknik perbanyakan tumbuhan tersebut memiliki keuntungan, antara lain eksplan yang digunakan hanya mengambil sebagian kecil dari tumbuhan sehingga tidak merusak pohon

induk dan tidak memerlukan ruangan yang terlalu luas. Selain itu, kultur *in vitro* juga dapat menghasilkan jumlah bibit tumbuhan yang banyak dalam waktu relatif singkat yang sifatnya identik dengan induknya (Darini, 2012).

Salah satu faktor yang mempengaruhi keberhasilan kultur *in vitro* yaitu ada tidaknya kontaminasi mikroorganisme pada media maupun eksplan. Pertumbuhan mikroorganisme yang sangat cepat dapat menutupi permukaan media dan eksplan sehingga pertumbuhan eksplan menjadi kalus akan terhambat. Menurut Zulkarnain (2009), sumber kontaminasi yang paling sulit dikendalikan adalah mikroorganisme pada eksplan. Eksplan biasanya mengandung debu, kotoran-kotoran, dan berbagai sumber kontaminan lain pada permukaannya terlebih jika tumbuhan yang digunakan berasal dari lapang. Sumber kontaminasi yang terdapat pada eksplan dapat dihilangkan dengan cara melakukan sterilisasi eksplan.

Salah satu bahan kimia yang umum digunakan untuk sterilisasi eksplan yaitu natrium hipoklorit (NaClO). NaClO sering digunakan sebagai bahan sterilan karena dapat membunuh berbagai macam tipe bakteri, jamur dan virus (Yildiz dan Er, 2002). Desinfektan ini membunuh sel bakteri dengan cara merusak DNA sel bakteri (Dukan dkk., 1999). NaClO juga mampu mengurangi persentase kontaminasi pada eksplan seperti yang telah dilaporkan oleh Shofiyani dan Hajoeningtjas (2010) yang menyatakan bahwa sterilisasi eksplan daun kencur menggunakan NaClO 20% selama 10 menit dan alkohol 70% selama 10 menit dapat menurunkan persentase kontaminasi pada eksplan sekitar 42%.

Keseimbangan konsentrasi dan waktu lama perendaman NaClO untuk setiap jenis eksplan perlu diperhatikan karena sifatnya yang fitotoksisitas. Konsentrasi NaClO yang terlalu tinggi menyebabkan permukaan eksplan mengalami *browning* dan semakin banyak jumlah eksplan yang *browning* (Rismayani, 2010). Lama waktu perendaman pada NaClO juga mempengaruhi keberlangsungan kehidupan eksplan. Proses perendaman eksplan pada NaClO yang terlalu lama dapat memicu kematian jaringan eksplan (Zulkarnain, 2009).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang penelitian, rumusan masalah yang diambil adalah berapakah konsentrasi dan lama waktu perendaman pada NaClO yang efektif untuk sterilisasi eksplan daun kemiri (*Aleurites moluccana* (L). Willd) secara *in vitro*.

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah menentukan konsentrasi dan lama perendaman eksplan pada NaClO yang efektif untuk sterilisasi eksplan daun kemiri (*Aleurites moluccana* (L). Willd) secara *in vitro*.

1.4 Manfaat

Penelitian ini diharapkan mampu memberikan pengetahuan baru dalam pengembangan penelitian tentang kemiri (*Aleurites moluccana* (L). Willd) secara *in vitro*. Selain itu, dengan melakukan penelitian ini diharapkan dapat membantu program rehabilitasi lahan di Taman Nasional Meru Betiri, dalam penyediaan bibit tumbuhan kemiri dengan waktu yang relatif cepat, jumlahnya banyak dan seragam.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kemiri (*Aleurites moluccana* (L). Willd)

2.1.1 Taksonomi dan Morfologi Kemiri

Kemiri merupakan kelompok tumbuhan tahunan dengan umur produktif 25 - 40 tahun. Tumbuhan ini termasuk dalam suku Euphorbiaceae. Secara sistematis klasifikasi dari tumbuhan Kemiri menurut Tropicos.org (1971), sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Bangsa	: Malpighiales
Suku	: Euphorbiaceae
Marga	: Aleurites
Jenis	: <i>Aleurites moluccana</i> (L). Willd.

Nama lokal kemiri di berbagai daerah di Indonesia berbeda-beda. Masyarakat daerah Sumatera menyebut kemiri sebagai buwa kare, kembiri, kemili, kemiling, kereh, matang ijo atau tanoan. Masyarakat di Jawa menyebutnya dengan nama kamere, kemiri, komere, midi, miri, muncang atau pidekan, di Kalimantan disebut sebagai keminting (Barani, 2006).

Akar tumbuhan kemiri termasuk akar tunggang dan berwarna coklat seperti tumbuhan dikotil pada umumnya. Tumbuhan ini juga memiliki banyak akar lateral dan artifisial yang menyebar di permukaan tanah (Murniati, 2010). Tumbuhan kemiri berhabitus pohon dan bertajuk lebar (Gambar 2.1). Tinggi pohonnya dapat mencapai 17 - 20 m dengan diameter batang sampai 1,5 m (Suhartati, 1993). Arah tumbuh batang keatas dan memiliki sedikit percabangan. Batangnya memiliki kulit berwarna abu-abu coklat dengan tekstur agak halus dan bergaris vertikal (Krisnawati dkk., 2011).

Kemiri memiliki tipe daun tunggal dengan duduk daun berseling. Daun kemiri pada pohon tua berbentuk bulat telur. Pertulangan daun menjari

(Paimin, 1997). Daun kemiri yang masih muda permukaan bagian atas berwarna putih mengilap dan ketika tua akan berubah warna menjadi hijau tua, sedangkan permukaan daun bagian bawah terdapat rambut-rambut halus dan mengilap. Panjang daun kemiri sekitar 10 - 20 cm. Perpotongan antara pangkal dan tangkai daun terdapat dua kelenjar yang dapat mengeluarkan getah manis (Krisnawati dkk., 2011).



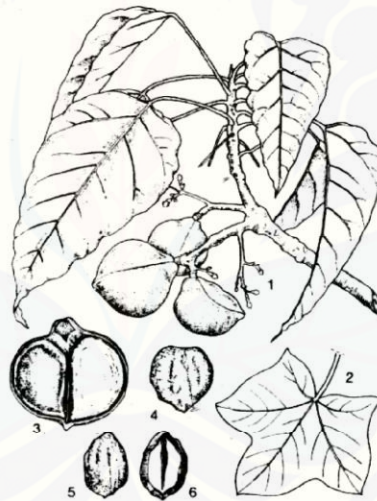
Gambar 2.1 Pohon kemiri (Kamera: Asus Zenfone 2 Laser)

Tumbuhan kemiri mulai berbunga pada umur 3 - 4 tahun. Pembungaan dari tumbuhan kemiri pada umumnya terjadi setiap tahun yaitu pada awal musim hujan, namun munculnya bunga tergantung dari setiap wilayah (Elevitch dan Manner, 2006). Kemiri termasuk dalam tipe bunga berumah satu (*monoecious*) yaitu bunga jantan dan betina tumbuh dalam satu pohon yang sama, tetapi letaknya terpisah (Suhartati, 1993). Letak bunga betina dibagian ujung cabang atau bagian akhir dari malai, sedangkan bunga jantan berukuran lebih kecil, jumlahnya lebih banyak dan tersusun mengelilingi bunga betina. Mahkota bunga kemiri tersusun atas lima petal berwarna putih yang saling terlepas (Elevitch dan Manner, 2006).

Buah kemiri berbentuk bulat telur, permukaannya berambut halus, berwarna hijau ketika masih muda dan akan berubah menjadi kecoklatan ketika tua. Pada umumnya satu buah kemiri berisi 2 - 3 biji (Gambar 2.2). Buah kemiri berbiji dua memiliki bentuk lonjong sedangkan yang berbiji satu memiliki bentuk

bulat. Buahnya termasuk dalam tipe buah batu dan berdaging (Suhartati, 1993). Daging buah kemiri berwarna keputihan (Yulianti dan Kurniawati, 2004). Buah akan matang atau jatuh dari pohon 20 minggu setelah pembuahan (Paimin, 1997).

Biji kemiri berbentuk bulat telur dengan rata-rata panjang 3 cm dan lebar 2,5 cm. Kulit biji kemiri bertekstur keras dan kasar dengan tebal 2,5 mm. Biji dan kulitnya sulit untuk dipisahkan karena saling menempel kuat. Daging biji kemiri berwarna putih dan mengandung minyak (Yulianti dan Kurniawati, 2004). Kandungan minyak pada biji kemiri sekitar 55 – 65% (Tanaka, 20012). Salah satu cara untuk mendapatkan minyak dari biji kemiri yaitu dengan cara pengepresan dingin maupun panas. Pengepresan dingin, dapat menghasilkan minyak berwarna kuning sedangkan, dengan pengepresan panas menghasilkan minyak berwarna kuning sampai coklat (Ketaren, 2005).



Gambar 2.2 *Aleurites moluccana* L. : 1. Cabang Pembuahan; 2. Daun pada pohon muda; 3. Buah (irisian memanjang); 4. Biji (tampak depan); 5. Biji (tampak samping); 6. Biji (risan memanjang) (Sumber: Plant Resources of South - East Asia no. 13)

2.1.2 Habitat dan Persebaran Kemiri

Pohon kemiri dapat tumbuh pada berbagai iklim dan tipe tanah termasuk lempung merah, liat berbatu, tanah kapur, dan tanah berpasir. Daerah tumbuh kemiri pada lingkungan bersuhu 21 - 27 °C dengan curah hujan 1.100 - 2.400 mm

per tahun dan rata-rata kelembapan 75%. Tumbuhan ini juga dapat tumbuh pada ketinggian 0 - 1200 mdpl (Yulianti dan Kurniawati, 2004).

Penyebaran kemiri hampir di semua daerah tropis yaitu mulai dari sebelah timur Asia, India, Cina, Asia Tenggara sampai wilayah Polinesia seperti Hawa'i. Di Indonesia pohon kemiri tumbuh di wilayah Sumatera Utara, Jawa, Madura, NTB, NTT, Maluku, dan Sulawesi Selatan (Krisnawati dkk., 2011)

2.2 Kultur Jaringan *In Vitro*

2.2.1 Pengertian dan Manfaat Kultur *in vitro*

Kultur *in vitro* merupakan salah satu teknik budidaya tumbuhan melalui sel, jaringan, organ tumbuhan dalam suatu kondisi lingkungan yang terkendali dan dalam keadaan aseptis atau bebas mikroorganisme (Gunawan, 1995). Perkembangan teknik kultur *in vitro* berawal dari teori totipotensi yang disampaikan oleh Sccheiden dan Schwan pada tahun 1838. Teori tersebut menyatakan bahwa sel tumbuhan mengandung material genetik dan mampu menjadi tumbuhan lengkap apabila ditumbuhkan pada lingkungan yang sesuai (Aziz dkk., 2014). Sel tumbuhan yang bersifat totipotensi pada umumnya dimiliki oleh tumbuhan yang masih muda dan juga jaringan yang aktif membelah (meristematik). Oleh karena itu, bahan tanam atau eksplan yang sering digunakan dalam kultur *in vitro* adalah bagian-bagian dari tumbuhan yang sifatnya meristematik seperti pucuk, daun muda, ujung akar, biji, kepala sari (Nasution, 2013).

Manfaat utama dari teknik kultur *in vitro* adalah untuk mendapatkan klon atau perbanyak massal dari tumbuhan dalam waktu yang relatif singkat, yang memiliki sifat fisiologi maupun morfologi yang sama dengan tumbuhan induk (Nasution, 2013). Menurut Fay (1992) pelestarian tumbuhan secara *in vitro* mempunyai keuntungan, yakni dapat menyimpan planlet dari tumbuhan langka yang hampir punah dan tumbuhan yang tidak menghasilkan biji. Planlet yang disimpan bebas gangguan hama penyakit dan bebas kontaminasi yang disebabkan oleh alam karena dijaga secara aseptis. Oleh karena itu, konservasi *in vitro* menjadi alternatif yang paling aman. Teknik kultur *in vitro* telah diketahui sangat

berguna dalam perbanyak jenis-jenis tumbuhan langka dengan cepat dan aman. Empat jenis tanaman dari marga *Rhododendrum* alam, lima jenis anggrek alam, dua jenis dari suku *Araceae* dan tiga jenis paku berhasil dikonservasi serta diperbanyak secara *in vitro* di Kebun Raya Eka Karya Bali (Warseno, 2015).

2.2.2 Faktor - Faktor yang Mempengaruhi Keberhasilan Kultur *In Vitro*

Keberhasilan teknik kultur *in vitro* dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu jenis eksplan, teknik sterilisasi eksplan, komposisi media, penambahan zat pengatur tumbuh, dan faktor lingkungan eksternal kultur. Bagian tumbuhan yang biasanya digunakan sebagai eksplan merupakan bagian yang masih aktif membelah (meristematik) (Nasution, 2013). Jaringan yang kurang aktif membelah memerlukan perlakuan khusus misalnya, jenis dan takaran zat pengatur tumbuh selama proses pengkulturan dan semakin tua organ eksplan yang digunakan, maka proses pembelahan dan regenerasi sel cenderung semakin menurun (Zulkarnain, 2009).

Beberapa sumber kontaminan pada kultur *in vitro* dapat berasal dari media tanam, bahan tanam, lingkungan kerja, peralatan kerja, dan lingkungan ruang inkubasi yang kurang steril (Zulkarnain, 2009). Kontaminasi pada media tanam dan peralatan kerja dapat dihilangkan dengan cara sterilisasi menggunakan *autoclave* sedangkan lingkungan kerja maupun ruangan inkubasi dilakukan sterilisasi dengan menyemprotkan alkohol atau formalin pada ruangan. Eksplan dari lapang biasanya mengandung banyak kontaminan, debu dan kotoran - kotoran, untuk menghilangkan kontaminan tersebut diperlukan bahan sterilisasi misalnya NaClO , hidrogen peroksida, *bromine water* dan silver nitrat. Penggunaan bahan sterilan pada sterilisasi eksplan juga harus diperhatikan. Konsentrasi bahan sterilan yang rendah membuat eksplan rentan terhadap patogen, namun semakin tinggi konsentrasi bahan sterilan maka akan menghambat perkembangan jaringan eksplan (Rismayani, 2010).

Komposisi media tanam berpengaruh terhadap pertumbuhan eksplan pada kultur *in vitro*. komposisi media tanam antara lain garam-garam anorganik, vitamin, zat pengatur tumbuh, sumber energi dan karbon. Garam-garam anorganik

terdiri dari unsur-unsur hara esensial. Unsur-unsur hara esensial terbagi menjadi dua yaitu unsur hara makro dan unsur hara mikro. Unsur hara makro dibutuhkan tumbuhan dalam jumlah lebih banyak seperti kalsium (Ca), hidrogen (H), oksigen (O), nitrogen (N), fosfor (P), kalium (K), sulfur (S), dan magnesium (Mg). Unsur hara mikro adalah unsur hara yang dibutuhkan oleh tumbuhan dalam jumlah sedikit, yang termasuk dalam unsur hara mikro yaitu mangan (Mn), zink (Zn), tembaga (Cu), molibdenum (Mo), boron (B), besi (Fe), dan klor (Cl) (Kainde dan Wagania, 2010). Unsur hara esensial tersebut diperlukan tumbuhan untuk proses metabolisme sebagai kofaktor dalam reaksi enzim (Nursyamsi, 2010).

Komposisi setiap media tanam tergantung dari jenis tumbuhan yang akan dikulturkan. Media dasar Murashige dan Skoog (MS) merupakan media tanam yang bisa digunakan untuk hampir semua jenis tanaman, terutama tanaman jenis herba. Media ini mempunyai konsentrasi garam-garam mineral yang tinggi dan senyawa N dalam bentuk NO_3^- dan NH_4^+ (Hendaryono dan Wijayani, 1994), sedangkan media yang lain yaitu media dasar *Vacin and Went* (VW) untuk kultur jaringan anggrek, media dasar B_5 untuk tumbuhan *leguminaceae* dan media dasar *Woody Plant Medium* (WPM) untuk tumbuhan berkayu atau tumbuhan hutan (Nursyamsi, 2010).

Pemberian zat pengatur tumbuh dalam kultur *in vitro* sangat penting untuk memicu perkembangan tumbuhan dan menentukan ekspresi dari tujuan yang diinginkan. Zat pengatur tumbuh yang sering digunakan yaitu kelompok sitokinin dan auksin. Sitokinin dapat meningkatkan pembelahan sel, meningkatkan perkecambahan, dan proliferasi pucuk sedangkan pemberian auksin pada media kultur dapat merangsang pemanjangan sel, pembelahan sel, dan pembentukan akar adventif (Nasution, 2013). Faktor - faktor dari lingkungan juga berpengaruh terhadap keberhasilan kultur *in vitro*.

Faktor-faktor lingkungan yang mempengaruhi antara lain adalah suhu, kelembaban, cahaya, karbondioksida, oksigen, dan etilen. Masing-masing faktor tersebut berkaitan satu dengan yang lainnya dalam mempengaruhi perkembangan eksplan yang dikulturkan. Hal ini dikarenakan setiap spesies tumbuhan memiliki kondisi lingkungan optimum yang berbeda untuk perkembangannya. Suhu yang

umum digunakan dalam kultur *in vitro* yaitu 25 – 28 °C yang merupakan suhu ruangan normal untuk pertumbuhan tumbuhan (Gunawan, 1992). Cahaya dapat mempengaruhi perkembangan suatu eksplan dalam pengaturan produksi bahan metabolit primer seperti enzim, karbohidrat, lipida, dan asam amino maupun metabolit sekunder seperti antosianin, flavonol dan karotenoid (Siregar dkk., 2010).

2.3 Natrium Hipoklorit (NaClO)

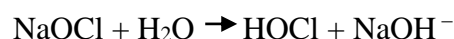
NaClO merupakan salah satu bahan kimia berupa larutan berwarna putih agak kekuningan berbau khas dan sedikit menyengat yang dapat berfungsi sebagai desinfektan karena dapat melepaskan ion klorin yang mampu membunuh mikroorganisme (Odutayo dkk., 2007). NaClO termasuk golongan halogen yang teroksidasi. Larutan ini merupakan desinfektan yang mampu membunuh bakteri, virus, jamur, parasit, dan beberapa spora (Suparno dan Febianti, 2014).

Rumus molekul dari Natrium Hipoklorit adalah NaClO. NaClO dapat diproduksi melalui reaksi senyawa klorin dengan natrium hidroksida yaitu:



Reaksi tersebut menghasilkan produk lain diantaranya natrium klorida (garam), air, dan juga panas (Oxychem, 2014).

NaClO adalah salah satu zat aktif yang jika dilarutkan dalam air akan menimbulkan oksidasi karena dapat melepaskan ion klorida ke dalam larutan dan juga efektif digunakan untuk pemurnian permukaan, pemutih, penghilang bau dan desinfektan air. Keberadaan soda kaustik dalam NaClO menyebabkan pH air meningkat. NaClO mempunyai pH antara 11 - 12 (Estrela dkk., 2002). Ketika NaClO larut dalam air, dua zat akan terbentuk yaitu asam hipoklorit dan ion hipoklorit. Asam hipoklorit kemudian terdegradasi membentuk asam klorida (HCl) dan oksigen (O) (Tanumihardja, 2010).



Oksigen merupakan oksidator yang sangat kuat, oleh karena itu, NaClO sering digunakan untuk membunuh bakteri, virus, dan jamur. NaClO dimanfaatkan sebagai desinfektan dikarenakan kemampuannya mengoksidasi,

menghidrolisa sel dan juga dapat mengalirkan air keluar dari sel secara osmosis karena sifatnya yang hipertonis (Estrela dkk., 2002).



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Sampel biji kemiri (*Aleurites moluccana* (L). Willd) yang digunakan berasal dari Taman Nasional Meru Betiri Resort Sanenrejo. Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Jurusan Biologi FMIPA Universitas Jember. Waktu penelitian dimulai bulan Maret 2018 sampai Juni 2018.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah peralatan diseksi (pinset, gunting, scalpel dan *surgical blades*), gelas ukur (100 ml dan 1000 ml), *beaker glass* (50 ml, 250 ml, 500 ml dan 1000 ml), *petridish*, mikropipet (10 - 100 μ L dan 100 - 1000 μ L), *hand sprayer*, *hot plate*, *electric autoclave*, *Laminar Air Flow* (LAF) (Microflow), oven listrik (Heraeus), pH meter (Eutech), *magnetic stirrer* (MHS-B), neraca analitik dan neraca digital (Ohaus), lampu spiritus, *refrigerator* (Sharp), rak kultur, dan kamera *handphone*.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan terdiri atas biji kemiri. Media tanam *Woody Plant Medium* (WPM), zat pengatur tumbuh (2,4 D), agar-agar *powder*, sukrosa, *aquadest* steril, detergen bubuk dengan kandungan surfaktan 22%, fungisida, bakterisida, surfaktan nonionik tween 80, alkohol 70%, alkohol 96%, NaOH, HCl, NaClO, iodin 10%, *tissue*, kertas saring, *plastic wrap*, *aluminium foil*, kertas sampul coklat, dan kertas label.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan 2 faktor perlakuan yaitu faktor konsentrasi NaClO yang terdiri dari empat taraf dan faktor lama perendaman (penggojokan eksplan dalam wadah) yang terdiri dari tiga taraf sehingga terdapat 12 kombinasi

perlakuan. Setiap perlakuan dilakukan 3 kali pengulangan dan setiap unit terdiri dari dua botol kultur. Kombinasi perlakuan antara konsentrasi dan lama perendaman NaClO berdasarkan uji pendahuluan yang sudah dilakukan ditampilkan seperti Tabel 3.1

Tabel 3.1 Kombinasi Perlakuan Konsentrasi dan Lama perendaman NaClO

Konsentrasi NaClO (K)	Lama perendaman (L)		
	L1 (2,5 menit)	L2 (5 menit)	L3 (7,5 menit)
K0 (0%)	K0L1	K0L2	K0L3
K1 (1%)	K1L1	K1L2	K1L3
K2 (2%)	K2L1	K2L2	K2L3
K3 (3%)	K3L1	K3L2	K3L3

3.3.2 Persiapan Bahan Tanam

Biji kemiri ditumbuhkan di rumah kaca sampai muncul daun muda yaitu ketika tumbuhan berusia sekitar 3 - 4 minggu. Daun muda kemiri akan digunakan sebagai bahan tanam atau eksplan. Menurut Nasution (2013) bahan tanam atau eksplan yang sering digunakan adalah bagian-bagian dari tanaman yang masih aktif membelah seperti pucuk, daun muda, ujung akar, biji, polen maupun kepala sari. Pada penelitian ini daun muda yang digunakan untuk eksplan yaitu daun muda yang berumur sekitar 1 - 2 minggu.



Gambar 3.1 Daun muda kemiri berumur 1 minggu (Kamera: Asus Zenfone 2 Laser)

3.3.3 Sterilisasi Alat, Media Tanam dan *Laminar Air Flow* (LAF)

Peralatan kultur *in vitro* yang akan digunakan perlu disterilisasi terlebih dahulu untuk mencegah kontaminasi. Sterilisasi peralatan kerja untuk penanaman

dilakukan dengan cara mencucinya dengan air dan sabun, setelah kering peralatan dibungkus dengan kertas sampul coklat (kecuali botol kultur) dan disterilisasi menggunakan *autoclave* pada tekanan 1 atm selama 45 menit dengan suhu 121 °C. Peralatan yang sudah disterilisasi, dikeringkan di dalam oven. Sebelum melakukan penanaman, alat-alat logam disemprot dengan alkohol 70% kemudian dibakar pada api bunsen. Sterilisasi media tanam juga perlu dilakukan untuk menghindari kontaminan. Media yang sudah dituangkan ke dalam botol kultur disterilisasi menggunakan *autoclave* dengan tekanan 1 atm pada suhu 121 °C dengan lama waktu 20 menit. Sterilisasi LAF dilakukan dengan penyemprotan alkohol 70% pada permukaannya. Lampu sinar UV pada LAF dihidupkan terlebih dahulu selama 30 menit sebelum penanaman.

3.3.4 Pembuatan dan Sterilisasi Media Tanam

Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah media *Woody Plant Medium* (WPM) yang telah ditambahkan sukrosa, agar-agar *powder* dan zat pengatur tumbuh 2,4 D konsentrasi 0,5 ppm. Media dibuat dengan cara mengambil dan menakar komposisi larutan stok WPM dalam 1 liter air. Komponen media ditambahkan *aquadest* sampai volumenya menjadi 1000 mL dan ditambahkan sukrosa 30 g/L kemudian larutan dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* serta pH diukur hingga 5,8. Larutan yang sudah homogen, ditambahkan agar bubuk sebagai pematat media sebanyak 8 g/L. Larutan tersebut dipanaskan sambil diaduk sampai mendidih (Himedia, 2017). Zat pengatur tumbuh berupa auksin yaitu 2,4 D ditambahkan ketika selesai proses pemanasan. Media dituangkan ke dalam botol kultur dengan ketebalan media ± 1 cm dan ditutup, selanjutnya media disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C tekanan 1 atm selama 20 menit. Media disimpan 3 - 7 hari dan siap digunakan (Surachman, 2011).

3.3.5 Sterilisasi Eksplan dan Penanaman

Eksplan daun muda kemiri yang baru diambil dari rumah kaca dicuci dan dihilangkan rambut-rambut halusanya dengan air mengalir. Eksplan direndam

dengan larutan detergen 2 g/100ml selama 5 menit kemudian dibilas dengan air sampai tidak ada buih. Eksplan tersebut lalu direndam dengan larutan fungisida 3 g/L yang dicampur dengan bakterisida 2 g/L dan juga 3 tetes surfaktan tween 80 selama 20 menit, kemudian dibilas dengan *aquadest* steril sebanyak 3 kali masing-masing selama 1 menit. Langkah selanjutnya, eksplan diletakkan diatas kertas saring yang berada dalam *petridish* dan dibawa ke ruang tanam (LAF). Sterilisasi dilanjutkan didalam LAF dengan merendam eksplan pada NaClO sesuai dengan perlakuan konsentrasi dan lama perendaman, kemudian dibilas dengan *aquadest* steril sebanyak 3 kali selama 1 menit. Sterilisasi berikutnya yaitu menggojok eksplan dengan alkohol 70% selama 5 menit kemudian dibilas *aquadest* steril sebanyak 3 kali selama 1 menit. Sterilisasi terakhir yaitu merendam eksplan dengan iodine 10% sebanyak 3 tetes yang dilarutkan dengan *aquadest* steril 50 ml selama 2 menit kemudian eksplan dibilas *aquadest* steril selama 2 menit. Eksplan yang sudah disterilisasi dikeringkan dengan kertas saring, kemudian ditanam pada media WPM + 2,4D 0,5 ppm. Satu botol kultur diisi dengan satu eksplan.

3.4 Parameter Pengamatan

Penelitian ini dilaksanakan dan diamati dengan menggunakan beberapa parameter untuk mengetahui keefektifitasan NaClO pada sterilisasi eksplan daun kemiri secara *in vitro*, parameter tersebut yaitu:

1. Eksplan yang terkontaminasi

Pengamatan eksplan yang terkontaminasi dilakukan setiap interval satu minggu sampai akhir pengamatan yaitu 4 minggu setelah tanam (MST). Eksplan yang terkontaminasi kemudian dinyatakan dalam bentuk persentase.

2. Waktu munculnya kalus

Waktu munculnya kalus dilihat berdasarkan awal terbentuknya kalus pada eksplan daun kemiri. Pengamatan waktu munculnya kalus dilakukan setiap hari sekali sampai kalus muncul pertama kali. Batas pengamatan waktu munculnya kalus yaitu 30 hari setelah tanam (HST)

3. Eksplan yang membentuk kalus

Pengamatan eksplan yang membentuk kalus dilakukan setiap interval satu minggu sampai akhir pengamatan yaitu 4 minggu setelah tanam (MST). Eksplan yang membentuk kalus kemudian dinyatakan dalam bentuk persentase.

3.5 Analisis Data

Data efektivitas NaClO pada sterilisasi daun kemiri ditentukan berdasarkan parameter yang telah diamati, antara lain:

1. Eksplan yang terkontaminasi dinyatakan dalam bentuk persentase. Persentase (%) eksplan yang terkontaminasi dihitung dengan cara :

$$\% \text{ Kontaminasi} = \frac{\Sigma \text{ eksplan yang terkontaminasi}}{\text{jumlah seluruh eksplan}} \times 100\%$$

(Wulandari dan Nasution, 2014)

2. Waktu munculnya kalus dinyatakan dengan satuan waktu yaitu hari setelah tanam (HST). Data diperoleh dengan melakukan pengamatan morfologi pada eksplan setiap hari sampai kalus muncul pertama kali. Data tersebut kemudian diolah dengan menghitung rata - rata HST.
3. Eksplan yang membentuk kalus dinyatakan dalam bentuk persentase. Persentase (%) eksplan yang membentuk kalus dihitung dengan cara :

$$\% \text{ Pembentukan kalus} = \frac{\Sigma \text{ eksplan yang membentuk kalus}}{\text{jumlah seluruh eksplan}} \times 100\%$$

(Wulandari dan Nasution, 2014)

Data yang telah diperoleh dari tiga paramater dianalisis secara deskriptif kualitatif untuk menentukan konsentrasi dan lama perendaman eksplan pada NaClO yang efektif untuk sterilisasi eksplan daun kemiri (*Aleurites moluccana* (L). Willd) secara *in vitro*.

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, natrium hipoklorit untuk sterilisasi daun kemiri terbukti efektif. Konsentrasi 1% dengan lama perendaman 2,5 menit merupakan perlakuan NaClO yang paling efektif untuk sterilisasi eksplan daun kemiri, karena mampu menurunkan kontaminasi hingga 0%, menginduksi kalus lebih cepat selama 17 HST dan juga memiliki persentase pertumbuhan kalus sebesar 33,3%.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil yang didapatkan peneliti menyarankan bahwa penggunaan NaClO konsentrasi 1 - 2% untuk sterilisasi eksplan daun kemiri dan penggunaan kombinasi zat pengatur tumbuh untuk menginduksi kalus perlu dikaji lebih lanjut.

DAFTAR PUSTAKA

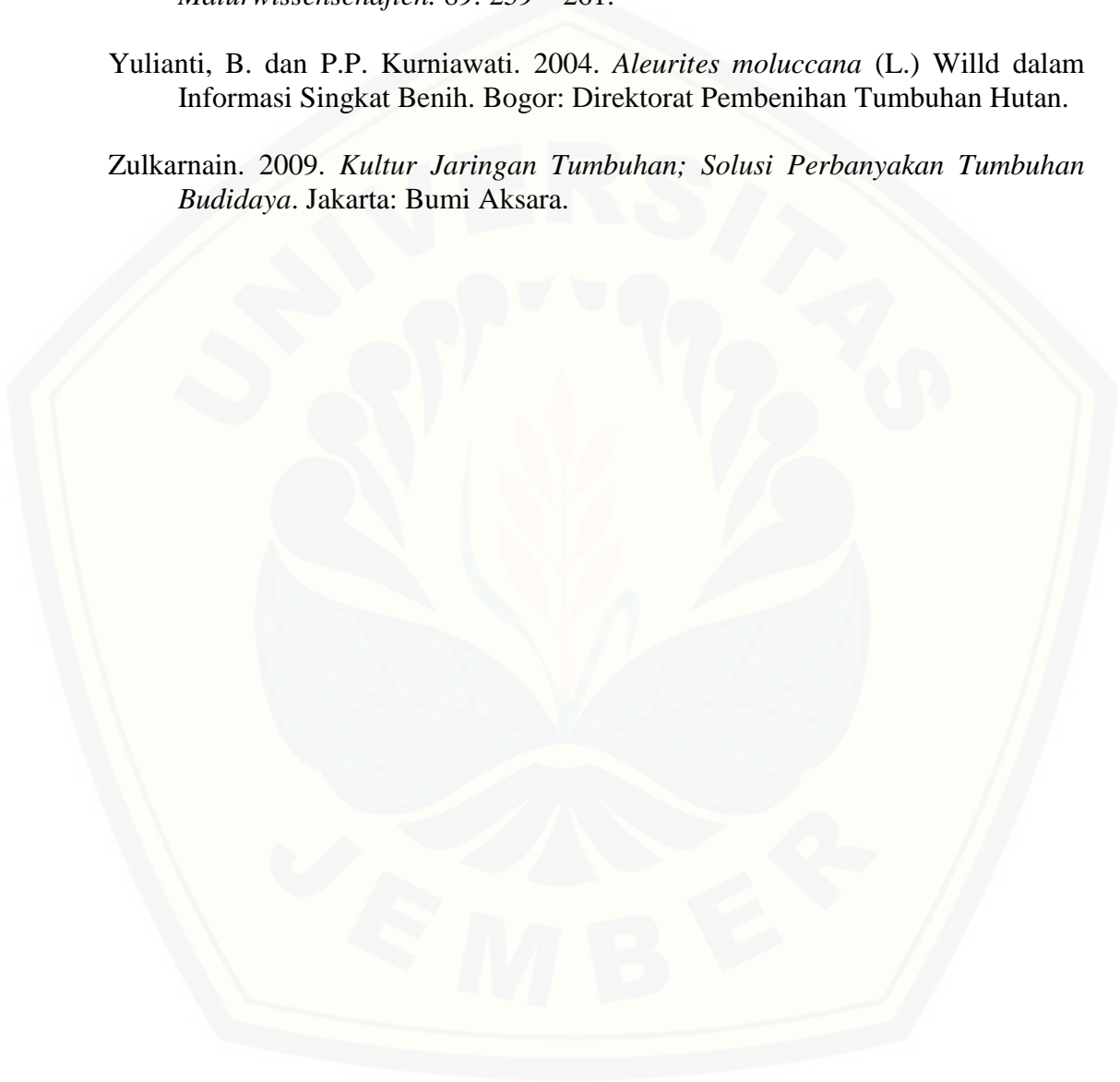
- Admojo, L. dan N. E. Prasetyo. 2016. Pengaruh Sterilan Terhadap Tingkat Kontaminasi Pada Kultur Petiol dan Midrib Daun Tanaman Karet (*Hevea Brasiliensis* Muell Arg.) Klon Pb 330. *Jurnal Penelitian Karet*. 34(2): 151 – 164.
- Ajjjah, N., I. M. Tasma dan E. Hadipoentyanti. (2010). Induksi Kalus Vanilli (*Vanilla planifolia* ANDREW.) dari Eksplan Daun dan Buku. *Buletin RISTRI*. 1(5).
- Ariany, S.P., N. Sahiri dan A. Syakur. 2013. Pengaruh Kuantitas Cahaya Terhadap Pertumbuhan Dan Kadar Antosianin Daun Dewa (*Gynura pseudochina* (L.) DC) Secara *In Vitro*. *E - Journal Agrotekbis*. 1(5): 413 – 420.
- Armila, N.K.P., M.U. Bustami dan Z. Basri. 2014. Sterilisasi dan Induksi Kalus Bawang Merah (*Allium Ascalonicum* L.) Lokal Palu Secara *In Vitro*. *e - J Agrotekbis*. 2(2): 129 – 137.
- Aziz, M.M., E. Ratnasari dan Y.S. Rahayu. 2014. Induksi Kalus Umbi Iles - Iles (*Amorphophallus muelleri*) dengan Kombinasi Konsentrasi 2,4 - D dan BAP Secara *In Vitro*. *Jurnal Lentera Bio*. 3(2): 109 – 114.
- Barani, A.M. 2006. *Pedoman Budidaya Kemiri (Aleurites molluccana willd)*. Direktorat Jenderal Perkebunan Departemen Pertanian
- Darini, M.T. 2012. Efektivitas Sterilisasi dan Efisiensi Media Murashige Skoog Terhadap Pertumbuhan Eksplan Lidah Buaya. *Agrineca*. 12(2).
- Dukan, S., S. Belkin, dan D. Touati. 1999. Reactive oxygen species are partially involved in the bactericidal action of hypochlorous acid. *Biochem*. 367: 311–316.
- Elevitch, C.R. dan Manner, H.I. 2006. *Traditional tree initiative: species profiles for Pacific Islands agroforestry*. Hawai'i: Permanent Agriculture Resourch (PAR).
- Estrela, C., Estrela C.R.A., Barbin E.L., Spano J.C., Marchesan, M.A., dan Pecora J.D. 2002. Mechanism of Action of Sodium Hypochlorite. *BrazDentJ*. 13(2):113 – 117.
- Fay, M.F. 1992. Conservation of Rare and Endangered Plants Using *In Vitro*. *In Vitro Cell. Dev. Biol*. 28: 1 – 4.

- Gunawan, L.W. 1992. *Teknik kultur jaringan*. Bogor: Pusat Antar Universitas Bioteknologi Institut Pertanian Bogor.
- Gunawan, L.W. 1995. *Teknik Kultur in vitro dalam Hortikultura*. Jakarta: PT. Penebar Swadaya.
- Harahap, P.S., L.A.M. Siregar dan Y. Husni. 2015. Respon Eksplan Nodus dalam Inisiasi Tunas Mikro Tanaman Karet (*Hevea brasiliensis* Muell Arg.) dalam Medium MS. *Jurnal Online Agroekoteknologi*. 3(1): 229 – 237.
- Hendaryono, D.P.S. dan A. Wijayanti. 1994. *Teknik Kultur jaringan*. Yogyakarta: Kanisus.
- Hennesey, T.D. 2001. Some Antibacterial Properties of Chlorhexidine. *J Perodont Res*.8: 7 - 16.
- Himedia. 2017. *Product Information; Woody Plant Medium With Calcium Chloride and Vitamins Without Sucrose and Agar*. India: HiMedia Laboratories Pvt.
- Husain, I. dan R. Tuiyo. 2012. Pematangan Dormansi Benih Kemiri (*Aleurites moluccana* L. Willd) yang Direndam Dengan Zat Pengatur Tumbuh Organik Basmingro dan Pengaruhnya Terhadap Viabilitas Benih. *JATT*. 1(2): 95 – 100.
- Hutami, S. 2008. Masalah Pencoklatan pada Kultur Jaringan. *Jurnal Agrobien*. 4(2): 83 – 88.
- Javalera, M.F., R.T. Rojas, M.E.T. Hernandez, M.A.M. Tellez, I.V. Arispuro, M.A.I. Osuna dan M.R. Dominguez. 2016. Surface disinfection procedure and in vitro regeneration of grapevine (*Vitis vinifera* L.) axillary buds. *Springerplus*. 5: 453.
- Kainde R.P dan B. Wagania . 2010. Kajian Perkecambahan Benih Mahoni Pada Beberapa Media Secara In Vitro. *Jurnal Eugenia*. 16(1): 74 – 80.
- Ketaren, S. 2005. *Minyak dan Lemak Pangan*. Edisi pertama. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Krisnawati, H., M. Kallio dan M. Kanninen. 2011. *Kemiri (Aleurites moluccana (L.) Willd.): Ekologi, Silvikultur dan Produktivitas*. Bogor: CIVOR.
- Mahadi, I., W. Syafii dan Y. Sari. 2016. Induksi Kalus Jeruk Kasturi (*Citrus microcarpa*) Menggunakan Hormon 2,4 - D dan BAP dengan Metode *in vitro*. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI)*. 21(2): 84 – 89.

- McCown, B.H. dan G. Lloyd. 1981. Woody Plant Medium (WPM) - A Mineral Nutrient Formulation for Microculture of Woody Plant Species. *HortScience*. 16: 453 – 453.
- Murniati. 2010. Arsitektur Pohon, Distribusi Perakaran, Dan Pendugaan Biomassa Pohon Dalam Sistem Agroforestry. *Jurnal Penelitian Hutan dan Konservasi Alam*. 7(2): 103 – 117.
- Nasution, S.S. 2013. Pengaruh Teknik Sterilisasi Terhadap Keberhasilan Inisiasi Eksplan *Paulownia* (*Paulownia elongata* Sy. Hu) Secara *In Vitro*. Thesis. Bogor: Program Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor.
- Nursyamsi. 2010. Teknik Kultur Jaringan Sebagai Alternatif Perbanyakan Tanaman Untuk Mendukung Rehabilitasi Lahan. *Prosiding Ekspose Hasil - Hasil Penelitian Balai Penelitian Kehutanan Makassar*. 22 Juni 2010.
- Odutayo, O.I., N.A. Amusa, O.O. Okutade dan Ogunsanwo Y.R. 2007. Sources Of Microbial Contamination In Tissue Culture Laboratories In Southwestern Nigeria. *African Journal of Agricultural Reseach*. 2(3): 67 – 72.
- Oratmangun, K.M., D. Pandiangana dan F.E. Kandou. 2017. Deskripsi Jenis-Jenis Kontaminan Dari Kultur Kalus *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. *Jurnal MIPA Unsrat Online*. 6(1): 47 – 52.
- Oxychem. 2014. *Sodium Hypochlorite Handbook*. Dallas: LBJ Freeway.
- Paimin, F.R. 1997. *Kemiri; Budidaya dan Prospek Bisnis*. Jakarta: Penebar Swadaya..
- Perochena, A.D.C., C.M.. Bramante, F.B.D. Andrade, A.G.A. Maliza, B.C. Cavenago, M.A. Marciano, P.A. Silva, dan M.H. Duarte. 2015. Antibacterial And Dissolution Ability Of Sodium Hypochlorite in Different PHS on Multi - Species Biofilms. *Clin Oral Invest*.
- Putri, A.I. 2009. Kajian Glycocalyx Bakteri Pada Kontaminasi Ulin (*Eusideroxylon zwageri*) In - vitro. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*. 3(1): 33 – 42.
- Rismayani, H.F. 2010. Pengaruh Pemberian Chorox (NaOCl) Pada Sterilisasi Permukaan Untuk Perkembangan Bibit *Aglaonema* (*Donna Carmen*) Secara *In Vitro*. *Prosiding Seminar Ilmiah dan Pertemuan Tahunan PGJ dan PEJ XX*. 27 Mei 2010. *Komisariat Daerah Sulawesi Selatan*.

- Shofiyani, A. dan O.D. Hajoeningtjas. 2010. Pengaruh Sterilan Dan Waktu Perendaman Pada Eksplan Daun Kencur (*Kaemferia galanga* L) Untuk Meningkatkan Keberhasilan Kultur Kalus. *Agritech*. 12(1): 11 – 29.
- Shofiyani, A. dan N. Damajanti. 2015. Pengembangan Metode Sterilisasi Pada Berbagai Eksplan Guna Meningkatkan Keberhasilan Kultur Kalus Kencur (*Kaemferia galanga* L). *Agritech*. 12(1): 55 – 64.
- Sholihah, N.F. dan T.B. Saputro. 2016. Respon Tanaman Jagung (*Zea mays* L.) Varietas Manding terhadap Cekaman Salinitas (NaCl) secara *In Vitro*. *Jurnal Sains dan Seni ITS*. 5(2): 2337 – 3520.
- Simamora, I., R. M. Lubis dan M. K. Harahap. 2015. Pematahan Domarsi Secara Fisik, Kimia dan Pengaruh Lama Penyimpanan Terhadap benih Kemiri (*Aleurites moluccana* Willd). *Grahatani*. 1(3): 25 – 34.
- Siregar, L.A.M., L.K. Chan dan P.L. Boey. 2010. Pengaruh Kasein Hidrolisat dan Intensitas Cahaya Terhadap Produksi Biomassa dan Alkaloid Canthinonedi 49 dalam Kultur Subsensisel Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia* Jack). *Makara Sains*. 14: 15 – 21.
- Suhartati. 1993. Teknik Perlakuan Benih, Pembibitan dan Penanaman Kemiri (*Aleurites moluccana* Willd). *Jurnal Penelitian Kehutanan*. 7(1).
- Suparno, O. dan I. Febianti. 2014. Penentuan Waktu Oksidasi Untuk Proses Penyamakan Kulit Samoa Dengan Minyak Biji Karet Dan Oksidator NaClO. *Prosiding Seminar Nasional Kulit, Karet, dan Plastik Ke - 3 Yogyakarta*. 29 Oktober 2014. 107 – 121.
- Surachman, D. 2011. Teknik Pemanfaatan Air Kelapa Untuk Perbanyak Nilam Secara *In Vitro*. *Buletin Teknik Pertanian*. 16(1): 31 – 33.
- Tanaka, K. 2002. Kemiri (*Aleurites moluccana*) and Forest Resource Management in Eastern Indonesia: An Eco - historical Perspective. *Asian and African area studies*. 2: 5 – 23.
- Tanumihardja, M. 2010. Larutan Irigasi Saluran Akar. *Dentofasial*. 9(2): 108 - 115.
- Warseno, T. 2015. Konservasi Ex Situ Secara In Vitro Jenis - Jenis Tumbuhan Langka Dan Kritis Di Kebun Raya “Eka Karya” Bali. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon*. Agustus 2015. 1(5): 1075 – 1082.
- Wolf, J.B. 2007. *Tissue Culture Methods*. Baltimore: Departement of Biological Sciences, University of Maryland.

- Wulandari, A.S. dan S.S. Nasution. 2014. Pengaruh Bahan Sterilan terhadap keberhasilan Inisiasi Eksplan Paulownia (*Paulownia elongata* SY Hu) secara *In Vitro*. *Jurnal Silvikultur Tropika*. 5(1): 1 – 6.
- Yildiz, M. dan C. Er. 2002. The Effect Of Sodium Hypochlorite On In Vitro Seedling Growth And Shoot Regeneration Of Flax (*Linum usitatissimum*). *Maturwissenschaften*. 89: 259 – 261.
- Yulianti, B. dan P.P. Kurniawati. 2004. *Aleurites moluccana* (L.) Willd dalam Informasi Singkat Benih. Bogor: Direktorat Pembenihan Tumbuhan Hutan.
- Zulkarnain. 2009. *Kultur Jaringan Tumbuhan; Solusi Perbanyak Tumbuhan Budidaya*. Jakarta: Bumi Aksara.



LAMPIRAN

Lampiran A. Komposisi Media Dasar WPM

Kode Stok	Bahan	Pengambilan bahan (gr)	dilarutkan dalam <i>aquadest</i> (ml)	pemakaian stok dalam 1 L media (ml)
A	NH ₄ NO ₃	4	100	10
B	CaCl ₂ .2H ₂ O	1,92	100	5
C	Ca(NO ₃) ₂ .2H ₂ O	5,56	100	10
D	MgSO ₄ .7H ₂ O	3,7	100	10
	KH ₂ PO ₄	1,7		
E	K ₂ SO ₄	9,9	100	10
F	Na ₂ EDTA	0,746	100	5
	FeSO ₄ .7H ₂ O	0,556		
Unsur mikro	MnSO ₄ .4H ₂ O	0,446	100	5
	H ₃ BO ₃	0,124		
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,172		
	CuSO ₄ .5H ₂ O	0,005		
	Na ₂ MoO ₄ .H ₂ O	0,005		
Vitamin	Myo - inositol	1	100	10
	Thiamine	0,1	100	1
	Pyridoxine	0,05		
	Nicotinic acid	0,05		
	Glycine	0,2		
Sukrosa				30 gr
Agar				8 gr