



**EFEKTIFITAS KONSENTRASI BAP (*6-Benzylaminopurine*) DAN  
2,4-D (*2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid*) TERHADAP INDUKSI  
KALUS DAUN KEMIRI (*Aleurites moluccana* (L). Willd)  
SECARA *IN VITRO***

**SKRIPSI**

Oleh  
**Azizah**  
**NIM 141810401001**

**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS JEMBER  
2019**



**EFEKTIFITAS KONSENTRASI BAP (*6-Benzylaminopurine*) DAN  
2,4-D (*2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid*) TERHADAP INDUKSI  
KALUS DAUN KEMIRI (*Aleurites moluccana* (L.) Willd)  
SECARA *IN VITRO***

**SKRIPSI**

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

Oleh  
**Azizah**  
**NIM 141810401001**

**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS JEMBER  
2019**

### 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 Sunarti dan Bapak Sapari, terimakasih atas limpahan doa, kasih sayang, dukungan serta kesabaran dalam mendidik;
2. Keluarga besar tercinta terimakasih telah memberi doa, motivasi, dan dukungan;
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**

“Allah tidak membebani seseorang melainkan dengan kesanggupannya”

(QS.Al-Baqarah2: 286)

"Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan, sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan."

(QS. Asy Syarh ayat 5-6)

---

\*) Kementerian Agama Republik Indonesia, Yayasan Penyelenggara Penterjemah/Pentafsir Al Qur'an. 1971. *Mushaf Al-Qur'an dan Terjemahannya*. Jakarta: Nur Publishing.

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Azizah

NIM : 141810401001

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Efektifitas Konsentrasi BAP (*6-Benzylaminopurine*) Dan 2,4-D (*2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid*) Terhadap Induksi Kalus Daun Kemiri (*Aleurites Moluccana* (L). Willd) Secara *In Vitro*” 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, 16 Januari 2019

Yang menyatakan,

Azizah

NIM 141810401001

**SKRIPSI**

**EFEKTIFITAS KONSENTRASI BAP (*6-Benzylaminopurine*) DAN 2,4-D  
(*2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid*) TERHADAP INDUKSI KALUS  
DAUN KEMIRI (*Aleurites moluccana* (L.) Willd ) SECARA *IN VITRO***



Oleh  
Azizah  
NIM 141810401001

Pembimbing

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

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

**PENGESAHAN**

Skripsi yang berjudul “Efektifitas Konsentrasi BAP (*6-Benzylaminopurine*) Dan 2,4-D (*2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid*) Terhadap Induksi Kalus Daun Kemiri (*Aleurites Moluccana* (L). Willd) Secara *In Vitro*” 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

**Efektifitas Konsentrasi BAP (6-Benzylaminopurine) Dan 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid) Terhadap Induksi Kalus Daun Kemiri (*Aleurites Moluccana* (L). Willd) Secara *In Vitro*; Azizahi; 141810401001; 2019; 40 Halaman; Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.**

Hutan merupakan salah satu sumberdaya alam yang berfungsi sebagai sistem penyangga kehidupan yang perlu dijaga kelestariannya dengan cara pengelolaan hutan yang tepat. Pengolahan tersebut dapat dilakukan dengan suatu kegiatan rehabilitasi hutan yang memanfaatkan lahan rehabilitasi dengan tanaman MPTS (*Multi Purpose Tree Spesies*), yang merupakan jenis tanaman multi guna baik biji, bunga, buah, kulit, kayu, akar maupun getahnya. Salah satu jenis tumbuhan MPTS adalah tumbuhan kemiri (*Aleurites moluccana*). Selama ini teknik budidaya tumbuhan kemiri secara generatif membutuhkan waktu perkecambahan yang lama, karena kemiri memiliki struktur kulit biji yang keras dan tebal. Alternatif lain untuk budidaya tumbuhan kemiri tersebut adalah perbanyakan secara vegetatif melalui kultur *in vitro*.

Salah satu faktor yang harus diperhatikan saat melakukan proses perbanyakan kultur *in vitro* adalah Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) yang ditambahkan pada media kultur. Jenis ZPT yang sering digunakan dalam kultur *in vitro* adalah 2,4-D (*2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid*) dan BAP (*6-Benzylaminopurine*). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kombinasi konsentrasi BAP (*6-Benzylaminopurine*) dan 2,4 D (*2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid*) yang efektif untuk menginduksi kalus daun kemiri.

Penelitian ini menggunakan dua faktor perlakuan. Faktor pertama yaitu konsentrasi BAP terdiri empat taraf B1 = 0 ppm, B2 = 1 ppm, B3 = 2 ppm, B4 = 3 ppm. Faktor kedua konsentrasi 2,4-D terdiri dari empat taraf yaitu D1 = 0 ppm, D2 = 0.25 ppm, D3 = 0.5 ppm, D4 = 0.75 ppm. Eksplan yang digunakan daun muda kemiri berumur 1 – 2 minggu. Media kultur yang digunakan adalah media



*Woody Plant Medium* (WPM). Data dianalisis secara diskriptif kualitatif berdasarkan tiga parameter pengamatan yaitu waktu munculnya kalus, persentase terbentuknya kalus dan morfologi kalus.

Penggunaan konsentrasi BAP dan 2,4-D yang efektif untuk menginduksi kalus daun kemiri adalah konsentrasi BAP 3 ppm + 2,4-D 0,5 ppm (B4D3). Kombinasi perlakuan tersebut mampu menghasilkan waktu kalus pada hari ke 7 dan memiliki persentase terbentuknya kalus sebesar 83% serta menghasilkan warna kalus hijau kekuningan dengan struktur kalus remah. Media kultur dengan penambahan BAP ini mampu memicu pembelahan sel eksplan, sedangkan penambahan 2,4-D berperan sebagai pemanjangan sel ekplan daun kemiri.

## PRAKATA

Puji Syukur kehadiran Allah SWT. atas segala rahmat dan Karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Efektifitas Konsentrasi BAP (*6-Benzylaminopurine*) Dan 2,4-D (*2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid*) Terhadap Induksi Kalus Daun Kemiri (*Aleurites Moluccana* (L). Willd) Secara *In Vitro*”. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan program strata satu (S1) pada Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

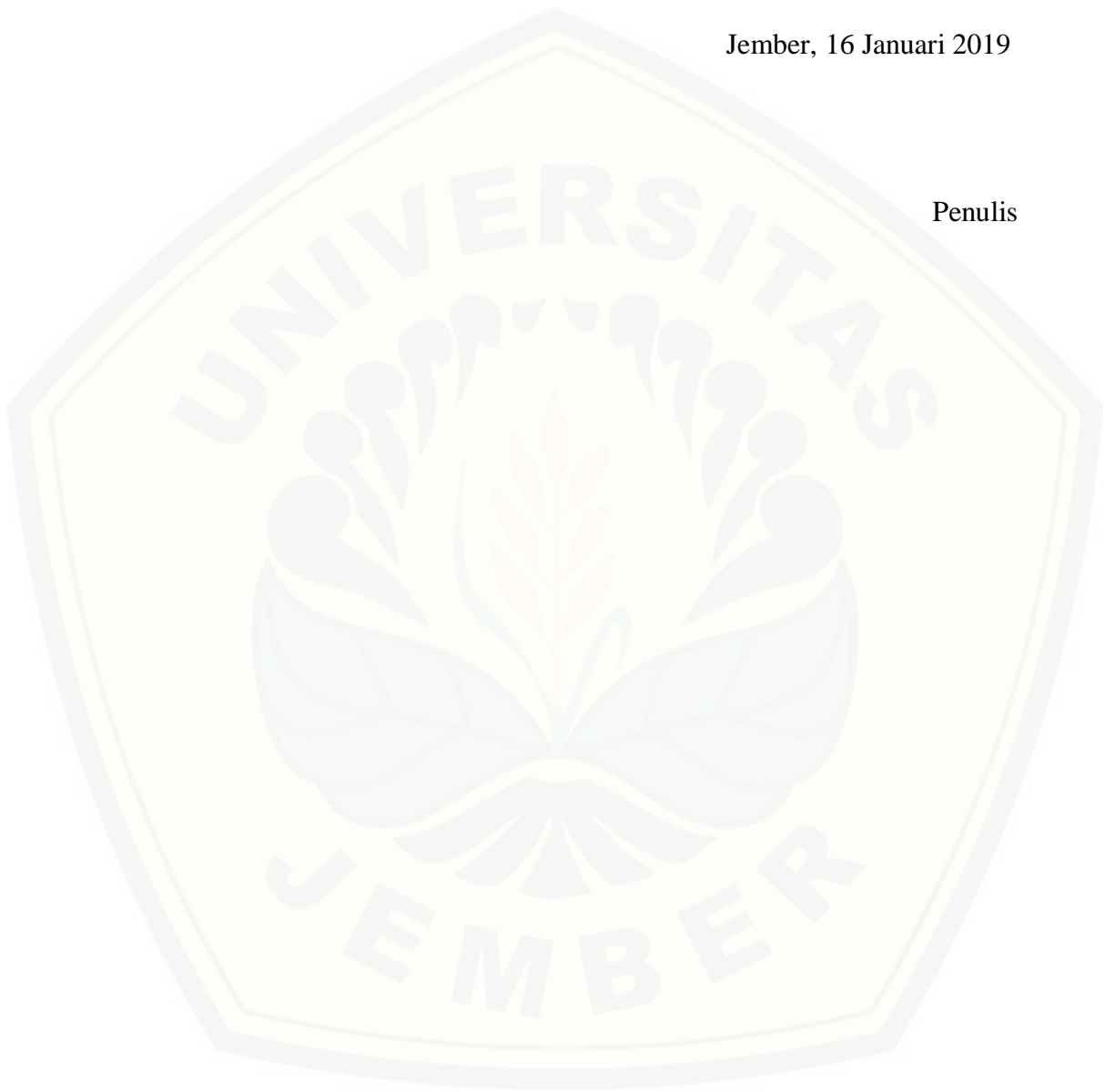
Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, sehingga penulis menyampaikan terima kasih kepada:

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 Femin Damayanti, Khilia Nisa', Anisatul Mukaromah, Masrurotul Hasanah, Desi Lutfiyani 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, 16 Januari 2019

Penulis



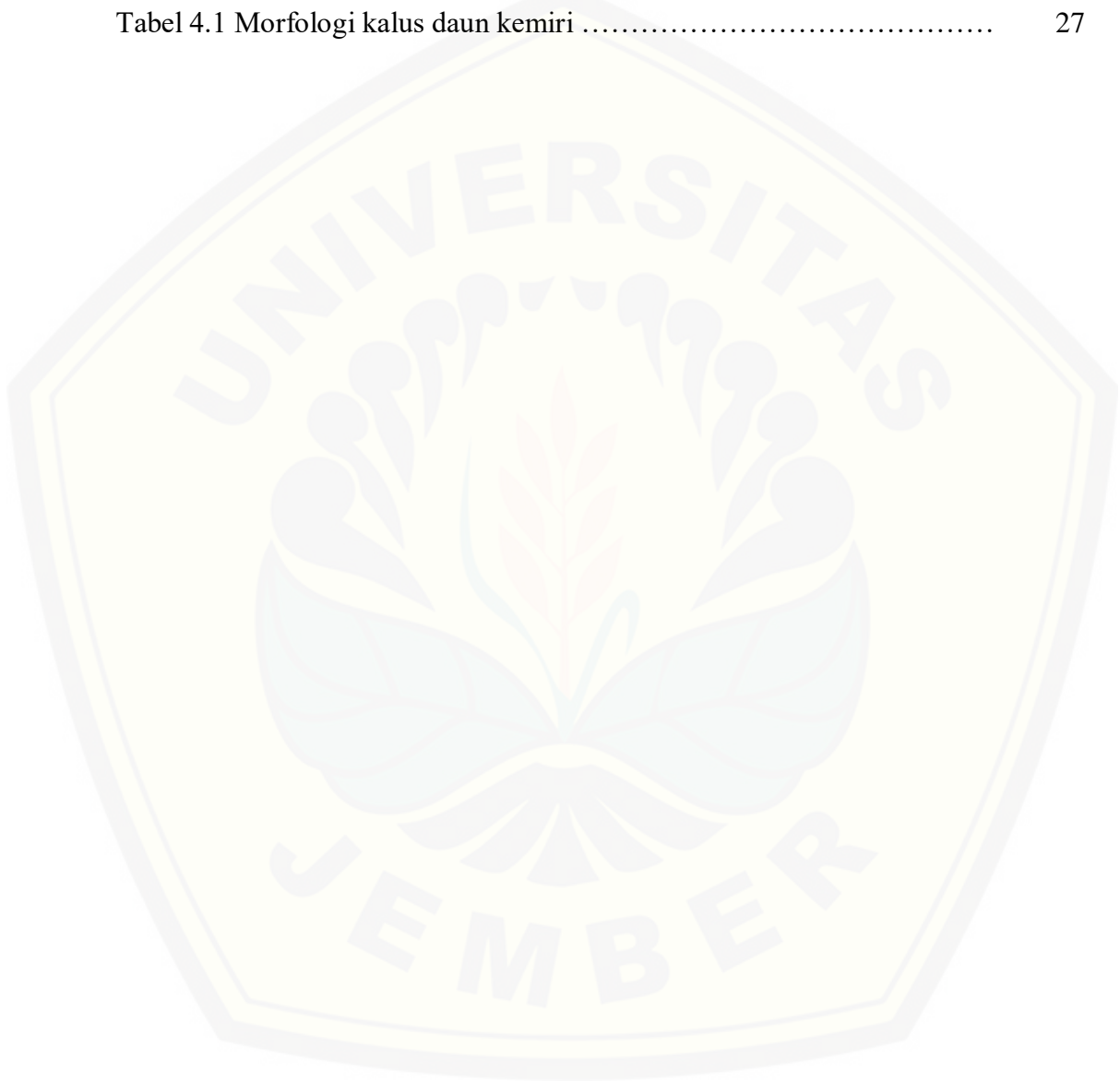
DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	iii
HALAMAN MOTTO .....	iv
HALAMAN PERNYATAAN .....	v
HALAMAN PEMBIMBING .....	vi
HALAMAN PENGESAHAN .....	vii
RINGKASAN .....	viii
PRAKATA .....	x
DAFTAR ISI .....	xii
DAFTAR TABEL .....	xiv
DAFTAR GAMBAR .....	xv
DAFTAR LAMPIRAN .....	xvi
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang .....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah .....</b>	<b>1</b>
<b>1.3 Tujuan .....</b>	<b>3</b>
<b>1.4 Manfaat .....</b>	<b>3</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>4</b>
<b>2.1 Kemiri (<i>Aleurites moluccana</i>) .....</b>	<b>4</b>
2.1.1 Morfologi Kemiri .....	5
2.1.2 Penyebaran Kemiri .....	6
2.1.3 Status Konservasi dan Pemanfaatan .....	7
<b>2.2 Kultur Jaringan .....</b>	<b>7</b>

2.3 Media Kultur Jaringan .....	9
2.4 Zat Pengatur Tumbuh .....	10
<b>BAB.3 METODE PENELITIAN .....</b>	<b>13</b>
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	13
3.2 Alat dan Bahan .....	13
3.3 Rancangan Penelitian .....	14
3.4 Alur Penelitian .....	15
3.5 Prosedur Penelitian .....	15
3.5.1 Persiapan Bahan Tanam .....	15
3.5.2 Sterilisasi Alat .....	16
3.5.3 Sterilisasi Larutan Stok .....	16
3.5.4 Pembuatan Larutan Stok .....	1
3.5.5 Pembuatan dan Sterilisasi Media Kultur .....	17
3.5.6 Sterilisasi dan Penanaman Eksplan Daun .....	17
3.5.7 Pemeliharaan .....	18
3.6 Parameter Pengamatan .....	18
3.7 Analisis Data .....	19
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>21</b>
4.1 Waktu Munculnya Kalus .....	21
4.2 Persentase Terbentuknya Kalus .....	24
4.3 Morfologi Kalus .....	26
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>22</b>
5.1 Kesimpulan .....	22
5.2 Saran .....	22
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>34</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>40</b>

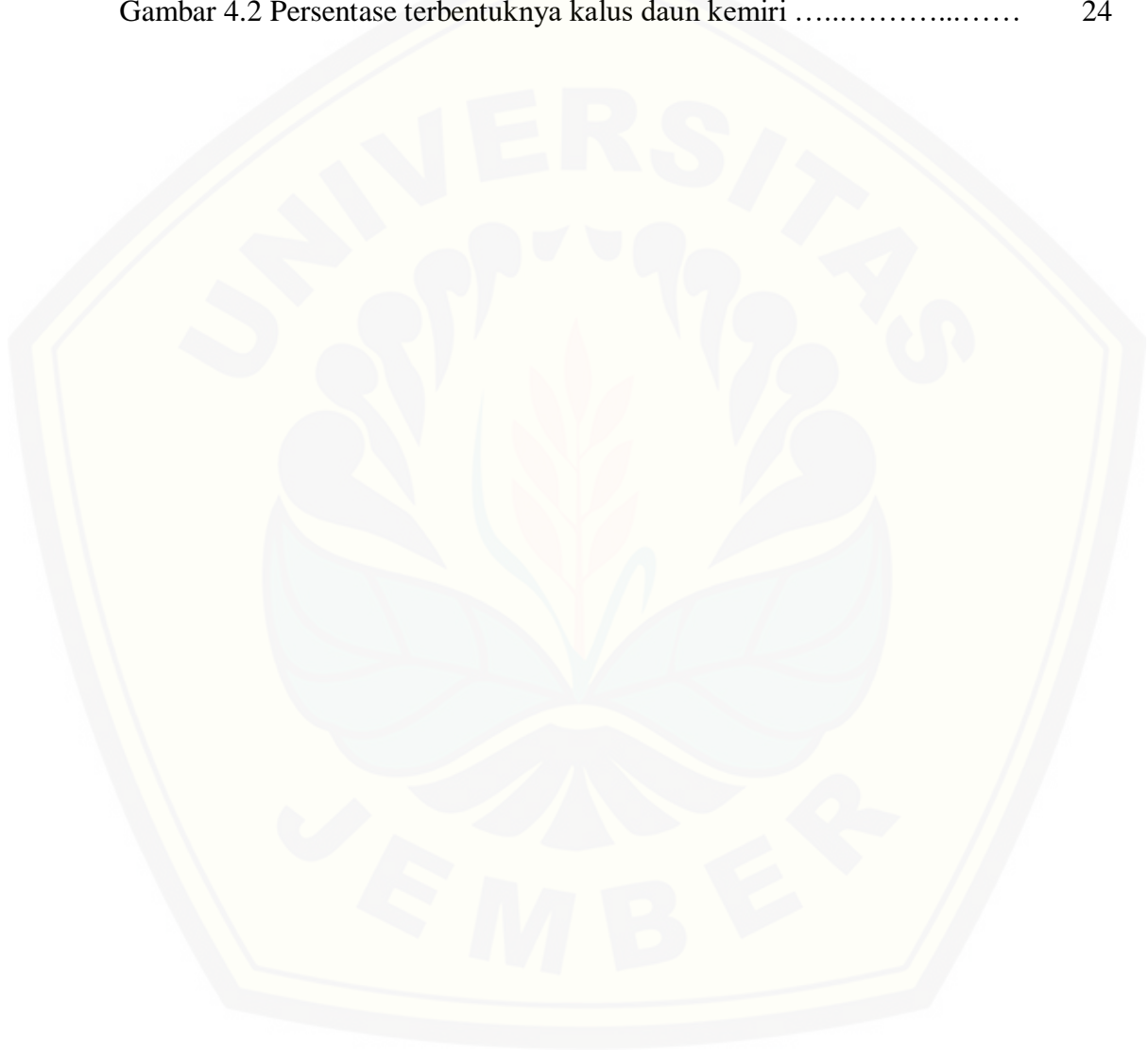
**DAFTAR TABEL**

	Halaman
Tabel 2.1 Macam-macam media kultur .....	10
Tabel 3.1 Kombinasi perlakuan konsentrasi BAP dan 2,4-D .....	14
Tabel 4.1 Morfologi kalus daun kemiri .....	27



**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
Gambar 2.1 Tumbuhan kemiri .....	6
Gambar 3.1 Alur penelitian .....	15
Gambar 3.2 Daun muda kemiri umur 1 minggu .....	16
Gambar 4.1 Waktu munculnya kalus daun kemiri .....	20
Gambar 4.2 Persentase terbentuknya kalus daun kemiri .....	24



**D`AFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
Lampiran 1. komposisi Media Dasar WPM .....	40





## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Hutan merupakan salah satu sumberdaya alam yang memiliki nilai ekonomi. Hutan juga berfungsi sebagai sistem penyangga kehidupan yang harus dijaga kelestariannya serta perlu dipertahankan dengan pengelolaan hutan yang tepat. Pengolahan tersebut dapat dilakukan dengan kegiatan rehabilitasi hutan yang bertujuan untuk memulihkan, mempertahankan, dan meningkatkan fungsi hutan. Selain itu, hutan juga mampu meningkatkan daya dukung lingkungan, produktifitas, dan peranan hutan sebagai sistem penyangga kehidupan. Kegiatan rehabilitasi diharapkan dapat berhasil sehingga ekosistem di hutan dapat dipulihkan guna mewujudkan keberlanjutan fungsi dan manfaat hutan untuk tujuan ekonomi (Kadir dkk., 2012).

Keterlibatan masyarakat di sekitar hutan sangat diperlukan untuk pengembangan kelestarian hutan di masa yang akan datang seperti, di Taman Nasional Meru Betiri (TNMB) yang memerlukan kerjasama dengan masyarakat sekitar hutan dengan cara memanfaatkan lahan rehabilitasi. Masyarakat berpartisipasi melalui kegiatan penanaman dan pemeliharaan serta pemanfaatan tumbuhan yang ada. Lahan rehabilitasi bisa ditanami dengan tanaman MPTS (*Multi Purpose Tree Spesies*) yang merupakan jenis tanaman multi guna baik biji, bunga, buah, kulit, kayu, akar maupun getahnya (Garsetiasih, 2015). Salah satu jenis tumbuhan MPTS adalah tumbuhan kemiri. Tumbuhan kemiri (*Aleurites moluccana*) dapat dimanfaatkan sebagai obat-obatan tradisional, bahan makanan (bumbu dapur), bahan bangunan, bahan pewarna. dan penerangan, serta minyak dari ekstrak biji kemiri berfungsi sebagai pencahar dan ampasnya berfungsi sebagai pupuk (Elevitch and Manner, 2006). Oleh karena itu, tumbuhan kemiri ini perlu untuk dibudidayakan, agar ketersediaan bibit kemiri dapat terpenuhi.

Budidaya tumbuhan kemiri yang dilakukan secara generatif memiliki beberapa kendala antara lain membutuhkan tempat yang luas, bibit yang dihasilkan jumlahnya terbatas dan waktu perkecambahan yang lama. Menurut Simamora dkk., (2015) kemiri memiliki struktur kulit biji yang keras dan tebal

sehingga permeabilitasnya rendah. Selain itu juga adanya keterbatasan jumlah biji yang merupakan faktor pembatas dalam menghasilkan bibit tumbuhan dengan waktu yang cepat. Oleh karena itu perbanyakkan vegetatif secara kultur *in vitro* merupakan solusi yang tepat untuk mencukupi ketersediaan bibit kemiri.

Perbanyakkan vegetatif melalui kultur *in vitro* merupakan suatu metode penanaman bagian dari tumbuhan (eksplan) seperti sel, jaringan dan organ pada media buatan dalam kondisi aseptik sehingga dapat beregenerasi menjadi tanaman lengkap (planlet). Metode ini berlangsung lebih cepat, menghasilkan bibit yang lebih banyak dibandingkan perbanyakkan generatif dan sifat yang dihasilkan identik dengan induknya (Mahadi dkk., 2016). Perbanyakkan secara kultur *in vitro* memiliki tujuan untuk pelestarian keanekaragaman jenis plasma nutfah yang dapat dimanfaatkan secara berkelanjutan. Namun demikian salah satu faktor yang harus diperhatikan saat melakukan proses perbanyakkan kultur *in vitro* adalah Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) yang ditambahkan pada media kultur.

ZPT merupakan senyawa-senyawa yang memiliki karakteristik yang sama dengan hormon, namun diproduksi secara eksogen. Jenis ZPT yang sering digunakan dalam kultur *in vitro* adalah 2,4-D (*2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid*) yang berfungsi untuk menginduksi kalus. ZPT 2,4-D ini merupakan salah satu hormon eksogen yang termasuk dari golongan auksin, yang memiliki sifat stabil dibandingkan dengan jenis auksin lainnya seperti IAA (*Indole Acetic Acid*), karena tidak mudah terurai oleh enzim-enzim yang dikeluarkan oleh sel tanaman ataupun oleh pemanasan pada proses sterilisasi (Indah dan Ermavitalini, 2013). Selain itu media kultur juga ditambahkan dengan golongan sitokinin yaitu BAP (*6-Benzylaminopurine*) yang berfungsi sebagai pemicu pembelahan dan pemanjangan sel sehingga dapat mempercepat perkembangan dan pertumbuhan kalus (Latunra dkk., 2017). Jika dibandingkan dengan jenis sitokinin yang lain misalnya kinetin, BAP lebih sering digunakan sebagai ZPT pada media kultur, karena BAP merupakan salah satu sitokinin sintetik yang lebih aktif dan tidak mudah terurai oleh enzim dalam tanaman (Gray, 2005).

Menurut Hendaryono dan Wijayani (1994), ketika ZPT antara 2,4-D dan BAP dikombinasikan, maka 2,4-D (auksin) akan berperan dalam mengontrol banyak

aspek pertumbuhan dan diferensiasi sel. Sedangkan BAP (sitokinin) nantinya akan memicu diferensiasi dan perkembangan sel serta pembentukan organ tanaman. Oleh karena itu perlu diteliti tentang perbanyakan kemiri secara kultur *in vitro* dengan penambahan konsentrasi ZPT BAP dan 2,4-D pada media kultur untuk menentukan konsentrasi yang efektif dalam menginduksi kalus.

### 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang penelitian, rumusan masalah yang diambil adalah berapakah kombinasi konsentrasi BAP (*6-Benzylaminopurine*) dan 2,4 D (*2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid*) yang efektif untuk menginduksi kalus daun kemiri (*Aleurites moluccana*) secara *in vitro*.

### 1.3 Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah di atas, tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui kombinasi konsentrasi BAP (*6-Benzylaminopurine*) dan 2,4 D (*2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid*) yang efektif untuk menginduksi kalus daun kemiri (*Aleurites moluccana*) secara *in vitro*.

### 1.4 Manfaat

Hasil penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi dan menjadi langkah perbanyakan tanaman kemiri (*Aleurites moluccana*) melalui kultur *in vitro* dengan penambahan ZPT BAP dan 2,4-D yang efektif. Metode perbanyakan kultur *in vitro* dapat digunakan sebagai acuan pengembangan budidaya tanaman kemiri (*Aleurites moluccana*), kemudian masyarakat bisa memanfaatkan tumbuhan kemiri yang ada sesuai kebutuhan tanpa merusak habitat asli di alam sehingga dapat menjaga dan meningkatkan kelestarian serta rehabilitasi alam, terutama di kawasan Taman Nasional Meru Betiri.

## BAB 2. TINJUAN PUSTAKA

### 2.1 Kemiri (*Aleurites moluccana*)

Tumbuhan kemiri *Aleurites moluccana* (L.) Willd merupakan salah satu pohon serba guna yang sudah dibudidayakan secara luas di dunia. Tumbuhan ini termasuk jenis asli Indo-Malaysia yang sudah diintroduksi ke Kepulauan Pasifik sejak jaman dahulu (Krisnawati dkk., 2011).

Klasifikasi tanaman kemiri sebagai menurut Tropicos.org (1971) yaitu:

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

Beberapa persamaan nama tumbuhan Kemiri di beberapa daerah di Indonesia, yaitu Kereh, Kemili, Kembiri, Tanoan, Kemiling, Tanoan atau Buwa Kare (Sumatera), Midi, Kamere, Komere, Pidekan, Miri, Kemiri (Jawa), Muncang (Sunda), Keminting, Kemiri (Kalimantan), Wiau, Lana, Berau, Boyau, Bontalo dudulaa atau Saketa (Sulawesi), Kemiri, Kemwiri, Kumiri, mi, nena, nyenga (Maluku), Tenu (Nusa Tenggara), dan Anoi (Papua) (Barani, 2006).

Kemiri banyak dijumpai di wilayah iklim hujan tropis. Di Indonesia, kemiri umumnya dapat dijumpai di ketinggian 0–800 mdpl dengan area yang datar hingga bergelombang. Kemiri juga mudah beradaptasi dengan baik di daerah lereng, bahkan di lembah yang curam. Pada umumnya kemiri tumbuh di daerah dengan curah hujan rata-rata pertahun berkisar antara 640-4290 mm (Krisnawati dkk., 2011). Suhu rata-rata pertahun untuk pertumbuhan kemiri yaitu minimum 18 °C dan maksimum 28°C. Di Indonesia, seperti di Sulawesi Selatan dan Nusa Tenggara Timur kemiri dapat tumbuh pada daerah yang kering dengan curah hujan pertahun hanya mencapai 200 mm (Suwanto dkk.,2014).

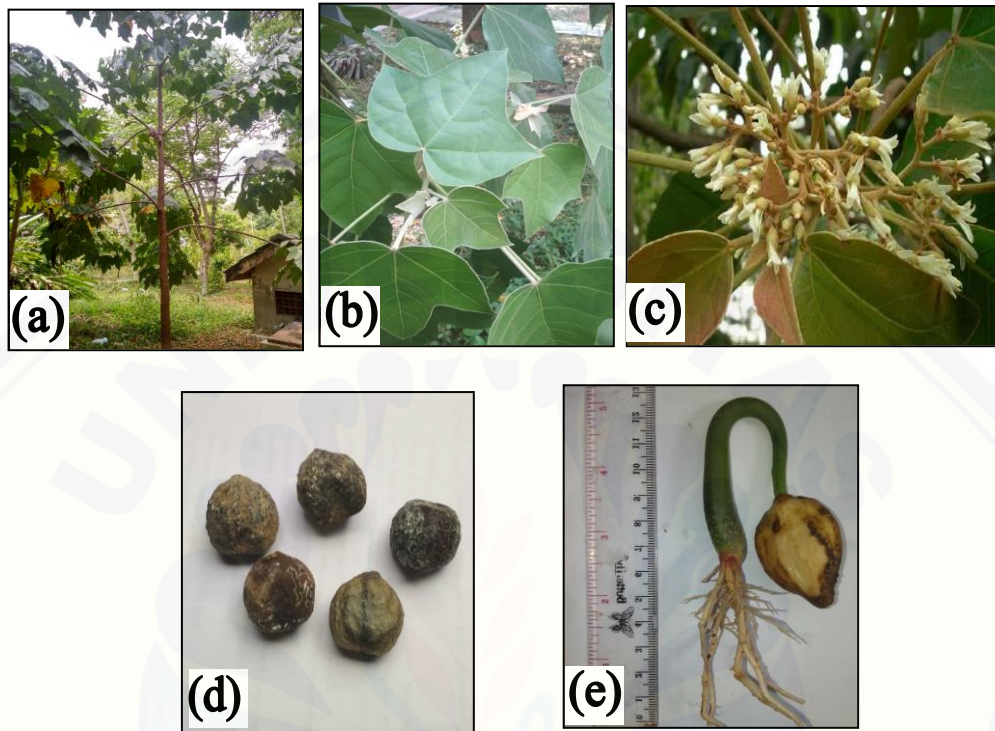
### 2.1.1 Morfologi Kemiri

Kemiri memiliki habitus berupa pohon dan memiliki perakaran tunggang (*radix primaria*) berwarna kecoklatan. Pohon kemiri memiliki ketinggian sampai 20 m dengan diameter batang setinggi dada sampai 90 cm. Batang kemiri berkayu (*lignosus*), berbentuk bulat (*teres*), permukaan batang beralur (*sulcatus*) vertikal berlentisel, kemudian kulit batang berwarna abu-abu kecoklatan dan arah pertumbuhan batang tegak lurus (*erectus*) dengan percabangan monopodial. Kemiri memiliki bentuk daun yang khas, yaitu ujung daun runcing (*acutus*), pangkal daun berlekuk (*emarginatus*), pertulangan daun menjari (*palminervis*) dan tepi daun bertoreh bercangap (*fissus*). Tipe daun tunggal saling bersilang dengan pinggir daun bergelombang. Panjang satu helai daun sekitar 10–20 cm dengan dua kelenjar di bagian perpotongan antara pangkal dan tangkai yang mengeluarkan getah. Daun kemiri yang muda berbentuk seperti delta atau oval, berwarna keputihan kemudian berubah menjadi warna hijau saat daun tua dan pada permukaan daun terdapat bulu halus (*pilous*) (Elevitch dan Manner, 2006).

Tumbuhan kemiri berumah satu atau *monoecious* karena di pohon yang sama terdapat bunga jantan dan bunga betina. Bunga kemiri termasuk bunga majemuk, percabangan bunga malai (*panicula*) yang terletak di ketiak ujung batang dengan mahkota bunga berwarna putih dan lima kelopak bunga berwarna putih kehijauan atau putih keruh (krem). Mahkota bunga berbentuk lonjong dengan panjang 1-3 cm dan berbau harum. Bunga jantan berukuran lebih kecil dari bunga betina. Panjang bunga jantan mencapai 6-7 mm, sedangkan panjang bunga betina mencapai 9-10 mm. Bunga dapat muncul lebih dari satu kali dalam satu tahun (Elevitch dan Manner, 2006).

Buah kemiri termasuk buah sejati tunggal berdaging yang tergolong dalam buah batu (*drupa*). Bentuk buah oval sampai bulat dengan panjang 5–6 cm dengan lebar 5–7 cm dan permukaan buah terdapat bulu halus. Ketebalan kulit buah sekitar 5-7 mm. Pada umumnya satu buah kemiri berisi 2–3 biji, tetapi pada buah jantan kemungkinan hanya ditemukan satu biji. Buah muda berwarna hijau, setelah masak berwarna coklat tua sampai kehitaman. Kulit biji kemiri umumnya kasar, keras, berwarna hitam dengan ketebalan tempurung biji sekitar 3-5 mm. biji

kemiri berbentuk bulat atau limas, sedikit gepeng, dan salah satu ujungnya meruncing. Daging biji berwarna putih yang terdiri dari endosperm dan kotiledon. Diameter daging biji sekitar 1,5-2 cm (Barani, 2006).



Gambar 2.1 Tumbuhan kemiri (a) pohon, (b) daun, (c) bunga, (d) biji (e) kecambah  
(Sumber: Dokumentasi pribadi)

### 2.1.2 Penyebaran Kemiri

Tumbuhan kemiri dapat tumbuh pada berbagai substrat tanah yaitu lempung, liat berbatu, pasir dan batu kapur. Kemiri cukup toleran terhadap kekeringan, kondisi tanah yang kurang subur, pH tanah 5 sampai 8 dan kondisi lingkungan yang lembab. Area terbuka dengan curah hujan yang sesuai dan terkena cahaya yang cukup, tumbuhan kemiri mampu tumbuh sebagai pohon pionir. Selain itu tumbuhan kemiri juga dapat tumbuh di bawah naungan dengan tingkat persen penutupan 25% (Krisnawati dkk., 2011).

Kemiri telah tersebar ke seluruh dunia, terutama di wilayah tropis. Penyebaran kemiri di Indonesia hampir meliputi seluruh wilayah kepulauan (Suwanto dkk., 2014). Di Indonesia merupakan daerah budidaya kemiri yang

utama dan dapat dijumpai di beberapa Provinsi yaitu Sumatera Utara, Sumatera Barat, Sumatera Selatan, Bengkulu, Lampung, Jawa Barat, Kalimantan Barat, Kalimantan Selatan, Kalimantan Timur, Bali, Sulawesi Selatan, Maluku, Nusa Tenggara Timur, Nusa Tenggara Barat hingga Papua (Direktorat Budidaya Tanaman Tahunan, 2008).

### 2.1.3 Status Konservasi dan Pemanfaatan

Status konservasi kemiri (*Aleuritas moluccana*) menurut Red List IUCN (*Internasional Union for Conservation of Nature*) adalah *Least Concern* atau resiko rendah (IUCN, 2017). Hal ini dikarenakan populasi tumbuhan kemiri masih relatif melimpah dan tersebar luas untuk dibudidayakan, terutama masyarakat Indonesia memanfaatkan kulit pohon kemiri untuk obat diare (disentri) dan biji kemiri untuk obat sembelit, masyarakat Jepang memanfaatkan kulit pohon kemiri untuk obat tumor, masyarakat Malaysia memanfaatkan daun kemiri yang direbus untuk obat demam, sedangkan masyarakat Hawaii memanfaatkan bunga dan getah kemiri untuk obat sariawan (Scott dan Craig, 2000).

Pada umumnya kemiri ditanam sebagai tanaman penahan angin, pembatas, pengisi lahan-lahan yang kosong disekeliling lahan pertanian dan penanaman yang memberikan pemandangan yang indah sebagai pohon peneduh terutama di daerah perkotaan. Di negara seperti Cina, Malaysia dan Indonesia, kayu kemiri digunakan untuk kotak, lemari, peti kemas, sumpit dan korek api. Masyarakat Hawaii juga memanfaatkan batang kayu kemiri untuk membuat sampan kecil untuk keperluan memancing. Para pengrajin di Bali memanfaatkan kayu kemiri untuk membuat beberapa ukiran atau kerajinan tangan tradisional. Kayu kemiri juga dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku pulp dan vinir kayu lapis (Krisnawati dkk., 2011).

## 2.2 Kultur Jaringan

Kultur jaringan adalah suatu metode untuk mengisolasi bagian dari tanaman seperti protoplasma, sel, jaringan, dan organ yang nantinya akan ditumbuhkan dalam kondisi aseptik pada media yang telah ditentukan komposisi

nutrisinya. Bagian-bagian tanaman tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman lengkap, serta memiliki bentuk dan fungsi yang sama seperti tanaman induknya (Gunawan, 1987). Menurut Wetherell (1982) kultur jaringan merupakan salah satu teknik budidaya tanaman yang dapat menumbuhkan sel dan jaringan yang berasal dari satu induk sehingga tumbuh menjadi sejumlah tanaman tunggal. Teknik ini memiliki berbagai keunggulan antara lain menggunakan sebagian kecil tanaman sehingga tidak merusak tanaman induk, waktu budidaya singkat, pertumbuhan tanaman tidak tergantung musim karena lingkungan tumbuh terkendali, dan menghasilkan tanaman bebas penyakit (Sukmajaja & Mariska 2003).

Teknik kultur jaringan didasarkan pada teori sel yang telah dikemukakan oleh Schleiden dan Schwann, yaitu sel memiliki kemampuan autonom dan kemampuan totipotensi. Kemampuan autonom adalah dapat melakukan metabolisme, tumbuh dan bergerak secara independen, jika diisolasi dari induknya. Sedangkan Totipotensi adalah kemampuan setiap sel hidup dari organisme multiseluler yang mampu berkembang dengan sendirinya apabila diletakkan pada lingkungan yang sesuai, sehingga akan tumbuh menjadi tanaman yang sempurna (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Eksplan adalah bagian tanaman (dapat berupa sel, jaringan atau organ) yang digunakan sebagai bahan inokulum yang ditanam pada media kultur jaringan yang nantinya akan mengalami pertumbuhan dan perkembangan (Nusmawarhaeni *et.al.*, 1991). Eksplan yang digunakan pada kultur jaringan tanaman adalah organ yang masih muda (primordia) dengan sel-sel yang masih bersifat meristematik (sel yang masih aktif membelah) seperti daun muda, ujung akar, ujung batang, ataupun tunas, sehingga eksplan mampu mengalami proses diferensiasi menjadi tanaman lengkap (Yuliarti, 2010). Menurut Menurut George dan Sherrington (1984), ukuran eksplan sangat berpengaruh terhadap keberhasilan eksplan *in vitro*. Apabila eksplan terlalu kecil menyebabkan ketahanan eksplan dan kemampuan regenerasinya menjadi kurang baik dalam kultur, sehingga dibutuhkan media yang sesuai komposisinya untuk pertumbuhan dan regenerasi dan apabila eksplan terlalu besar, maka akan mudah terjadinya kontaminasi oleh mikroorganisme.



Salah satu respon eksplan yang telah ditanam pada media kultur jaringan adalah mengalami proses terbentuknya jaringan penutup luka dengan terus menerus melakukan pembelahan sel. Jika pembelahan sel tidak terkendali, maka akan membentuk sekelompok sel yang tersusun dari sel-sel parenkim berdinding sel tipis yang berkembang dari hasil proliferasi sel-sel jaringan induk yang dapat disebut dengan kalus. Terbentuknya kalus tersebut dapat diakibatkan karena adanya perlakuan tertentu baik pada eksplan maupun media kultur dengan penambahan ZPT, sehingga dapat memicu eksplan dalam pembentukan kalus (Yuliarti, 2010). Penambahan ZPT pada media berperan dalam pertumbuhan dan perkembangan jaringan parenkim tanaman, dengan mengembalikan jaringan tersebut menjadi meristematik kembali dan berkembang menjadi kalus bahkan jaringan adventif. Proses ini dikenal dengan peristiwa dediferensiasi yang ditandai dengan peningkatan aktivitas pembelahan, pembesaran sel, dan perkembangan jaringan (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

### **2.3 Media Kultur Jaringan**

Media kultur jaringan adalah tempat yang berperan sebagai penyediaan nutrisi dengan memberikan berbagai bahan yang diperlukan untuk mendukung kehidupan jaringan dan memperbanyak diri. Ada dua macam media kultur yaitu media padat dan media cair. Nutrisi media padat berupa padatan gel seperti agar, sedangkan media cair nutrisinya terlarut dalam air (Gunawan, 1987). Media yang digunakan pada kultur *in vitro* ada bermacam-macam, untuk penggunaannya tergantung pada jenis tanaman yang digunakan dan tujuan masing-masing peneliti (Indah dan Ermavitalini, 2013).

Tabel 2.1 Macam-macam media kultur pada umumnya diberi nama sesuai dengan nama penemunya menurut Hendaryono dan Wijayani (1994), antara lain :

<b>Nama Media</b>	<b>Fungsi</b>
Media Murashige dan Skoog (MS)	Media yang digunakan untuk hampir semua macam tanaman terutama tanaman <i>herbaceous</i>
Media Nitsch dan Nitsch	Media yang digunakan untuk kultur tepung sari ( <i>pollen</i> ) dan kultur sel
Media B5 atau Gamborg	Media yang digunakan untuk kultur suspensi sel kedede atau legume lainnya
Media White	Media khusus digunakan untuk mengkultur eksplan akar
Media Vacin Went (VW)	Media yang digunakan khusus untuk tanaman anggrek
Media dasar N6	Media yang digunakan untuk kultur tanaman sereal terutama padi
Media Schenk dan Hildebrant	Media yang digunakan untuk kultur jaringan tanaman monokotil
<i>Woody Plant Media</i> (WPM)	Media yang digunakan kultur tanaman berkayu

Tumbuhan kemiri merupakan jenis tumbuhan berkayu, sehingga dalam penelitian ini media yang digunakan adalah media WPM. Media kultur ini merupakan media yang memiliki konsentrasi ion rendah dengan kandungan sulfat yang digunakan lebih tinggi dari pada sulfat yang ada pada media lainnya, sehingga media ini cocok sebagai media kultur tanaman tahunan yang berkayu (Hartanti dkk., 2017).

#### **2.4 Zat Pengatur Tumbuh**

Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) adalah senyawa organik, yang digunakan dalam jumlah sedikit dan dapat mendukung ataupun menghambat serta mampu merubah proses fisiologi tumbuhan (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Jika pada media tanpa diberi penambahan zat pengatur tumbuh, maka pertumbuhan lebih lambat bahkan mungkin tidak tumbuh sama sekali (tidak mengalami pertumbuhan dan perkembangan jaringan). ZPT pada tanaman berperan sebagai pengontrol proses biologi dalam jaringan tanaman. Peran lain dari ZPT adalah mengatur kecepatan pertumbuhan pada setiap jaringan dan mengintegrasikan bagian-bagian tersebut untuk menghasilkan bentuk yang sesuai dengan keinginan. Aktivitas zat pengatur tumbuh pada pertumbuhan tergantung dari jenis,

struktur kimia, konsentrasi, genotipe serta fase fisiologi tumbuhan (Satyavathi *et.al.*, 2004). Proses pembentukan organ seperti tunas atau akar akan ada interaksi antara zat pengatur tumbuh eksogen yang ditambahkan ke dalam media dengan zat pengatur tumbuh endogen yang diproduksi oleh jaringan tanaman. Penggunaan zat pengatur tumbuh pada media kultur jaringan tanaman berperan penting untuk mengontrol organogenesis, morfogenesis dalam pembentukan dan perkembangan tunas maupun akar serta pembentukan kalus dari eksplan (Lestari, 2011).

Pemberian zat pengatur tumbuh yang ditambahkan ke dalam media merupakan salah satu faktor penentu keberhasilan kultur secara *in vitro*. ZPT yang sering digunakan sebagai pembentukan kalus adalah auksin (Indah dan Ermavitalini, 2013). Auksin sangat dikenal sebagai hormon yang mampu berperan menginduksi kalus, menghambat kerja sitokinin dalam membentuk klorofil dalam kalus (dalam dosis tinggi), mendorong proses morfogenesis kalus membentuk akar, mendorong proses embriogenesis, dan auksin juga dapat mempengaruhi kestabilan genetik sel tanaman serta meningkatkan frekuensi kalus embriogenik (Santoso dan Nursandi, 2004). Jenis auksin yang umum digunakan pada media kultur jaringan adalah 2,4-D (*2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid*) dan IAA (*Indole Acetic Acid*). Jika dibandingkan dengan IAA, 2,4-D memiliki sifat stabil karena tidak mudah terurai oleh enzim-enzim yang dikeluarkan oleh sel tanaman ataupun oleh pemanasan pada proses sterilisasi (Indah dan Ermavitalini, 2013). Pemakaian ZPT 2,4-D biasanya digunakan dalam jumlah kecil dan dalam waktu yang singkat, antara 2 minggu – 4 minggu karena merupakan auksin kuat yang tidak dapat diuraikan di dalam jaringan tanaman (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Pada suatu dosis tertentu 2,4-D sanggup membuat mutasi-mutasi gen, karena mempunyai sifat fitotoksisitas yang tinggi sehingga dapat bersifat herbisida atau toksik bagi tanaman (Suryowinoto, 1996).

Selain auksin juga ditambahkan sitokinin, yang berperan penting dalam memicu pembelahan sel sehingga dapat mempercepat perkembangan dan pertumbuhan kalus (Indah dan Ermavitalini, 2013). Menurut George dan

Sherrington (1984), menyebutkan bahwa sitokinin adalah kelompok zat pengatur tumbuh yang sangat penting dalam pengaturan pertumbuhan dan morfogenesis pada kultur *in vitro*. Adanya sitokinin pada media kultur menyebabkan peningkatan pembelahan sel terutama saat sintesis RNA dan sintesis protein (Wattimena, 1988). Jenis sitokinin yang umum digunakan pada media kultur jaringan adalah BAP (*6-Benzylaminopurine*) karena memiliki sifat yang stabil, mudah diperoleh dan lebih efektif jika dibandingkan dengan kinetin. BAP merupakan salah satu sitokinin sintetik yang aktif dan daya rangsangannya lebih lama karena tidak mudah dirombak oleh enzim dalam tanaman serta sangat efektif dalam menstimulasi proliferasi dan induksi tunas (Gray, 2005). Kombinasi antara auksin dengan sitokinin dapat memacu morfogenesis dalam pembentukan organ tanaman. Penambahan auksin dan sitokinin ke dalam media kultur dapat meningkatkan konsentrasi zat pengatur tumbuh endogen di dalam sel, sehingga menjadi faktor pemicu dalam proses tumbuh dan perkembangan jaringan. Untuk memacu pembentukan organ tertentu dapat dilakukan dengan cara memberikan dosis auksin dan sitokinin eksogen yang sesuai (Indah dan Ermavitalini 2013).

## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Waktu Dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dimulai pada bulan Maret sampai Oktober 2018 bertempat di Laboratorium Bioteknologi dan Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Jember. Sampel biji diperoleh dari Resort Sanenrejo kawasan Taman Nasional Meru Betiri (TNMB).

### 3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi botol kultur, bunsen, petridish, peralatan diseksi (pinset besar, pinset kecil, dan pisau scalpel), plastik tahan panas, plastik wrap, *aluminium foil*, karet gelang, kertas label, *hand sprayer*, rak kultur, *nutcracker*, pengaduk (panjang 15 cm) gelas beker (Iwaki TE-32; ukuran 100ml, 500ml dan 1000 ml), gelas ukur (Schott Duran; ukuran 50 ml, 100 ml dan 500 ml), *Laminar Air Flow Cabinet* (ESCO; E HC-4), timbangan analitik (Ohaus; ketelitian 0,1 gram dan 0,001 gram) dan Digital (Ohaus; max. 200 gram), pH meter (Eutech; pH 510), *magnetic stirrer* (79HW-1), *hot plate* (Gerhardt; type:SV 3), autoklaf (HL 36 Ae), lemari pendingin (Sharp; -20 - 4°C), mikropipet dan mikrotip (ukuran 10-100 µl dan 100-1000 µl), kamera optiLab, mikroskop stereo (Olympus SZ51) dan oven (Heraeus; type: T 12; suhu 37-45°C),

Bahan-bahan yang digunakan terdiri atas daun kemiri (*Aleurites moluccana*). Bahan kimia yang akan digunakan dalam penelitian ini meliputi *Woody Plant Medium* (WPM), Zat Pengatur Tumbuh BAP dan 2,4-D, agar kultur, sukrosa, akuades, NaOH, HCL, detergen, Dhitane M-45 (Fungisida), Agrept (Bakterisida), NaClO 1%, alkohol 70%, tween 80, betadine dan spirtus.

### 3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan pola faktorial dengan tiga kali pengulangan. Berdasarkan studi literatur dan uji pendahuluan, penelitian ini menggunakan 2 faktor perlakuan, yaitu :

a. Faktor pertama yaitu konsentrasi BAP (B) yang terdiri atas 4 taraf, yaitu :

B1 = 0 ppm

B2 = 1 ppm

B3 = 2 ppm

B4 = 3 ppm

b. Faktor kedua yaitu konsentrasi 2,4-D (D) yang terdiri atas 4 taraf, yaitu :

D1 = 0 ppm

D2 = 0,25 ppm

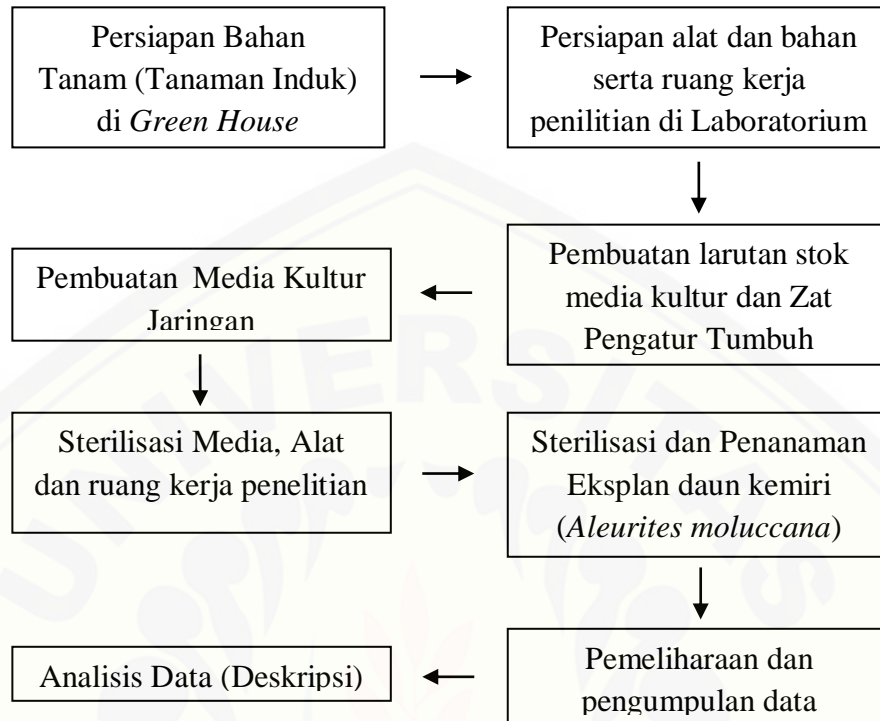
D3 = 0,5 ppm

D4 = 0,75 ppm

Tabel 3.1 Kombinasi Perlakuan Konsentrasi BAP dan 2,4-D

Konsentrasi BAP (B)	Konsentrasi 2,4-D (D)			
	D1 0	D2 0,25	D3 0,5	D4 0,75
B1 0	B1D1	B1D2	B1D3	B1D4
B2 1	B2D1	B2D2	B2D3	B2D4
B3 2	B3D1	B3D2	B3D3	B3D4
B4 3	B4D1	B4D2	B4D3	B4D4

### 3.4 Alur Penelitian



Gambar 3.1 Alur penelitian

### 3.5 Prosedur Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini meliputi:

#### 3.5.1 Persiapan Bahan Tanam

Menurut Direktorat Jendral Perkebunan Depertemen Pertanian (2008), media tanam yang digunakan untuk perkecambahan biji adalah campuran tanah dan pasir dengan perbandingan 2 : 1. Tanah yang digunakan adalah tanah top soil, sedangkan jenis pasir yang digunakan adalah pasir bangunan. Campuran tanah dan pasir kemudian di letakkan dalam bak perkecambahan yang sudah dilubangi bagian bawahnya. Tinggi media perkecambahan yaitu 5 cm dari dasar bak perkecambahan. Kemudian biji - biji kemiri tersebut disemaikan dengan jarak 10 cm - 15 cm. Setelah perkecambahannya sudah muncul  $\pm$  3 minggu dan cukup tinggi, maka kecambah kemiri di pindahkan ke tempat media tanah yang baru (polibag). Bagian tanaman yang akan dijadikan sebagai eksplan adalah daun muda kemiri  $\pm$  umur 1 minggu, karena menurut Yuliarti (2010) bagian organ yang

masih muda (primordia) memiliki sel-sel yang masih bersifat meristematik (sel yang masih aktif membelah) yang nantinya akan berdiferensiasi menjadi tanaman lengkap.



Gambar 3.2 Daun muda kemiri umur 1 minggu  
(Sumber: Dokumentasi pribadi)

#### 3.5.2 Sterilisasi Alat

Peralatan meliputi botol kultur, *scalpel*, *petridish*, dan pinset dicuci dengan menggunakan sabun, dibilas, kemudian dikeringkan. Alat-alat yang sudah kering dibungkus dengan kertas (kecuali botol kultur). Semua alat disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 17,5 Psi (kg/cm<sup>2</sup>) selama 20 menit. Selanjutnya alat yang disterilisasi, dikeringkan didalam oven pada suhu 45°C (Lukmana dan Rahmawati, 2016).

#### 3.5.3 Sterilisasi Laminar Air Flow

Sterilisasi ruang tanam dilakukan dengan penyemprotan alkohol 70 % dilanjutkan penyinaran sinar radiasi *Ultra Violet* permukaan LAFC selama 30 menit sebelum penanaman (Latunra dkk., 2017).

#### 3.5.4 Pembuatan Larutan Stok

Pembuatan larutan stok dilakukan dengan cara menimbang bahan-bahan kimia, hara makro, hara mikro yang sesuai komposisi media WPM, serta ZPT. Bahan-bahan tersebut dilarutkan dengan akuadest lalu diaduk sampai homogen menggunakan *magnetic stirrer*, lalu dimasukkan ke dalam botol yang diberi label



(sesuai dengan perlakuannya) dan disimpan dalam lemari pendingin dengan suhu 4°C (Latunra dkk., 2017).

### 3.5.5 Pembuatan dan Sterilisasi Media Kultur

Pembuatan media ini dilakukan dengan mengambil dan menakar masing-masing larutan stok sesuai dengan perlakuan dan ukuran yang telah ditentukan. kemudian memasukkannya ke dalam gelas *beaker*. Bahan-bahan tersebut dilarutkan dengan akuades sampai volume larutan mencapai 1000 ml (1 Liter). Kemudian ditambahkan gula (sukrosa) sebanyak 30 g dan agar sebanyak 8 g. Larutan dimasukkan dalam gelas *beaker* dan diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer*. Larutan dikondisikan pada pH 5,8 dengan menambahkan NaOH bila pH terlalu rendah dan bila pH terlalu tinggi ditambahkan dengan HCl. Larutan dididihkan dengan menggunakan *hot plate*. Setelah mendidih, larutan tersebut dituangkan ke botol kultur ± 25 ml setiap botolnya ditambahkan ZPT sesuai kombinasi perlakuan. Botol ditutup, kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 17,5 Psi selama 20 menit. Setelah itu, media ditempatkan pada rak-rak kultur (Lukmana dan Rahmawati, 2016).

### 3.5.6 Sterilisasi dan Penanaman Eksplan Daun

Eksplan daun kemiri dicuci dan dihilangkan rambut halus dipermukaan daun dengan air mengalir. Eksplan direndam dengan larutan detergen 2g/100 ml selama 5 menit, kemudian dibilas air sampai tidak berbuih. Eksplan direndam kembali dengan campuran larutan Dithane 3g/L (fungisida) dan larutan agrept 2g/L (bakterisida) serta 3 tetes tween selama 20 menit, kemudian dibilas dengan akuades steril selama 1 menit diulang sebanyak 3 kali (Wijaya dkk., 2017). Eksplan daun dikeringkan di atas kertas saring kemudian baru di masukkan ke LAF. Selanjutnya disterilisasi kembali dengan merendam eksplan dalam larutan NaClO 1 % selama 3 menit, kemudian dibilas dengan akuades steril selama 1 menit dan diulang sebanyak 3 kali. Eksplan daun direndam dengan alkohol 70% selama 45 detik, selanjutnya dibilas dengan akuades steril selama 1 menit diulang sebanyak 3 kali. Sterilisasi yang terakhir yaitu dengan cara direndam iodine 10% sebanyak 3 tetes bersama akuades steril 50 ml selama 2 menit, kemudian dibilas

dengan akuades steril selama 1 menit diulang sebanyak 2 kali (Prabakti dkk., 2017). Setelah perendaman dengan larutan sterilisasi, eksplan daun dikeringkan diatas kertas saring, setelah cukup kering daun dipotong  $\pm$  1,5 cm, kemudian ditanam pada media WPM sesuai perlakuan. Setiap botol kultur diisi dengan satu eksplan.

### 3.5.7 Pemeliharaan

Botol-botol kultur yang berisi eksplan dipelihara dengan cara menjaga kebersihan ruang inkubasi dan permukaan luar botol, untuk menghindari kontaminasi dilakukan penyemprotan alkohol 70% setiap dua hari sekali dan suhu ruangan 23-25°C (Wilujeng dan Agustini, 2017).

## 3.6 Parameter Pengamatan

Penelitian ini dilaksanakan dan diamati selama 30 hari menggunakan beberapa parameter pengamatan untuk mengetahui konsentrasi BAP dan 2,4-D yang efektif terhadap induksi kalus biji kemiri (*Aleurites moluccana*) secara *In Vitro* yaitu:

### 1. Waktu Munculnya Kalus

Kemunculnya kalus dilihat berdasarkan awal terbentuknya kalus pada eksplan kemiri yang diamati. Pengamatan dilakukan setiap hari sekali sampai kalus muncul dengan menghitung hari saat muncul kalus pertama kali yang dinyatakan dalam HST (hari setelah tanam) dengan batas pengamatan waktu munculnya kalus yaitu 30 HST. Munculnya kalus ditandai dengan adanya pembengkakan atau munculnya jaringan berwarna putih pada permukaan eksplan (Mahadi dkk., 2016).

### 2. Persentase 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. (Mahadi dkk., 2016).

### 3. Morfologi Kalus

Pengamatan warna dan struktur kalus dilakukan pada akhir pengamatan (30 HST). Kalus memiliki macam-macam warna, seperti coklat, putih, putih kekuningan hijau kekuningan dan hijau (Prabakti dkk., 2017). Sedangkan struktur kalus dilihat berdasarkan k yang terbentuk dan dikelompokkan menjadi 2 yaitu *friable* (remah) dan *nonfriable* (kompak) (Lizawati, 2012).

### 3.7 Analisis Data

Data efektifitas konsentrasi BAP dan 2,4-D pada media kultur daun kemiri ditentukan berdasarkan parameter yang telah diamati, antara lain:

#### 1. Waktu Munculnya Kalus

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 (Wulandari dan Nasution, 2014).

#### 2. Persentase Eksplan yang Membentuk Kalus

Persentase (%) eksplan yang membentuk kalus dihitung dengan cara :

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

(Wulandari dan Nasution, 2014)

#### 3. Morfologi Kalus

Pengamatan morfologi kalus dengan cara mengamati secara visual, baik warna maupun struktur kalus yang terbentuk dari eksplan. Warna kalus dilihat menggunakan *Munsell Color Charts for Plants Tissues* berdasarkan eksplan kemiri yang membentuk kalus (Prabakti dkk., 2017). Bentuk struktur kalus remah (*friable*) mempunyai tekstur lunak tersusun dari sel-sel renggang, mudah dipisahkan dan sedikit kandungan air. Sedangkan struktur kalus kompak (*nonfriable*) mempunyai tekstur padat dan keras, yang tersusun dari sel-sel kecil yang rapat, susah dipisahkan dan mengandung banyak air (Sugiarto dan Paramita., 2014).

Data yang telah diperoleh dari tiga paramater dianalisis secara deskriptif kualitatif untuk menentukan konsentrasi BAP dan 2,4-D yang efektif untuk media kultur eksplan daun kemiri (*Aleurites moluccana* (L). Willd) secara *in vitro*.



## **BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN**

### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa perlakuan kombinasi konsentrasi B4D3 (BAP 3 ppm + 2,4-D 0,5 ppm) merupakan kombinasi konsentrasi ZPT yang efektif untuk menginduksi kalus daun kemiri, karena pada konsentrasi tersebut eksplan mampu menghasilkan waktu kalus pada hari ke 7 HST dan persentase terbentuknya kalus sebesar 83% serta menghasilkan warna kalus hijau kekuningan dengan struktur kalus remah.

### **5.2 Saran**

Berdasarkan hasil yang didapatkan peneliti menyarankan bahwa penambahan ZPT (zat pengatur tumbuh) pada media sebaiknya menggunakan perlakuan B4D3 (BAP 3 ppm + 2,4-D 0,5 ppm) karena pada konsentrasi tersebut lebih efektif untuk menginduksi kalus daun kemiri. Pada penelitian ini merupakan langkah awal untuk mengetahui efektifitas kombinasi ZPT dalam menginduksi kalus, sehingga untuk penelitian selanjutnya perlu dilakukan lebih lanjut mengenai pengukuran diameter kalus dan biomassa kalus.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali, A., A. Tahani., A. Nadeem dan I. A. Hafiz. 2009. Effect of Different Media and Growth Regulators on *In Vitro* Shoot Proliferation of Olive Cultivar 'moraiolo'. *Pakistan Journal Botany*. 41(2): 783-795.
- Ariani, R., Anggraito Y. U. dan Rahayu E. S. 2016. Respon Pembentukan Kalus Koro Benguk (*Mucuna Pruriens* L.) Pada Berbagai Konsentrasi 2,4-D dan BAP. *Jurnal MIPA*. 39(1): 20-28.
- Arianto., B. Zainuddin dan M. U. Bustamil. 2013. Induksi Kalus Dua Klon Kakao (*Theobroma cacao* L.) Unggul Sulawesi pada Berbagai Konsentrasi 2,4 *Dichlorophenoxy Acetic Acid* secara *In Vitro*. *E-Jurnal Agrotekbis* 1(3): 211-220.
- 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 moluccana Willd.)*. Jakarta : Departemen Pertanian.
- Direktorat Budidaya Tanaman Tahunan . 2008. Budidaya Kemiri. Direktorat Jenderal Perkebunan, Kementerian Pertanian, Jakarta, Indonesia. <http://ditjenbun.deptan.go.id/budtanam/images/copy%20of%20budidaya%20kemiri.pdf> [Diakses pada 19 November 2018].
- Elevitch, C.R. dan Manner, H.I. 2006. *Traditional tree initiative: species profiles for Pacific Islands agroforestry*. <http://www.agroforestry.net/tti/Aleurites-kukui.pdf> [Diakses pada 18 November 2018].
- Fadilah R., E. Ratnasari dan Isnawati. 2014. Induksi dan Pertumbuhan Kalus Daun Tin (*Ficus carica*) dengan Penambahan Berbagai Kombinasi Konsentrasi IBA dan Kinetin pada Media MS secara *In Vitro*. *Jurnal Lentera Bio* 3(3): 141–146.
- Garsetiasih, R. 2015. Persepsi Masyarakat Sekitar Kawasan TNMB dan TNAP Yang Terganggu Satwaliar Terhadap Konservasi Banteng (*Bos javanicus* d'Alton 1823). *Jurnal Penelitian Hutan dan Konservasi Alam*. 12 ( 2): 119-135.

- George, E. F. and P. D. Sherrington. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture. Handbook and Directory of Commercial Laboratories*. England: Exegenetic Limited.
- Gray DJ. 2005. Propagation from nonmeristematic tissue: nonzygotic embryogenesis, 187-200. In: RN Trigiano and DJ Gray (Eds.). *Plant Development and Biotechnology*. United States America: CRC Press.
- Gunawan, L. W. 1987. *Teknik Kultur Jaringan*. PAU Bioteknologi IPB. Bogor.
- Hartanti, L.D., L. Maharani dan D.S. Sukamto. 2017. Perbandingan Kombinasi Konsentrasi ZPT (BAP & NAA) Media WPM Terhadap Induksi Kalus Pada Eksplan Daun Muda Tanaman Karet (*Hevea brasiliensis* Muell.Arg). *Prosiding Seminar Nasional SIMBIOSIS II*. 30 September 2017. IKIP PGRI Jember: 246-254.
- Hayati, S. K., Y. Nurchayati dan N. Setiari. 2010. Induksi Kalus dari Hipokotil Alfalfa (*Medicago sativa* L.) secara in vitro dengan Penambahan *Benzyl Amino Purin* (BAP) dan  *$\alpha$ -Naphthalene Acetic Acid* (NAA). *Jurnal BIOMA*. 12 (1): 6-12.
- Hendayono, P., S. Daisy., dan A. Wijayani. 1994. *Teknik Kultur Jaringan dan Petunjuk Perbanyakkan Tanaman Secara Vegetatif Modern*. Yogyakarta: Kanisius.
- Ikeuchi M, K. Sugimoto dan A. Iwase. 2013. Review: Plant Callus: Mechanisms of Induction and Repression. *Journal The Plant Cell*. 25(9): 3159–3173.
- Indah, P.N. dan D. Ermavitalini. 2013. Induksi Kalus Daun Nyamplung (*Calophyllum inophyllum* Linn.) Pada Beberapa Kombinasi Konsentrasi 6-*Benzylaminopurine* (BAP) dan 2,4-*Dichlorophenoxyacetic Acid* (2,4-D). *JURNAL SAINS DAN SENI POMITS*. 2(1): 1-6.
- Kadir, Abd., S. A. Awang, R. H. Purwanto dan E. Poedjirahajoe. 2012. Peremajaan Kemiri ( Wild.) Pada Kawasan Taman Nasional Bantimurung Bulusaraung (Sebuah Tinjauan Kebijakan Pemerintah). *Jurnal Analisis Kebijakan Kehutanan*. 9 (3): 176 – 189.
- Karjadi, A.K dan A.Buchory. 2007. Pengaruh NAA dan BAP Terhadap Pertumbuhan Jaringan Meristem Bawang Putih Pada Media B5. *Jurnal Hort*. 17(3): 217-223

- Khumaida, N dan T, Handayani. 2010. *Induksi dan proliferasi kalus embriogenik pada beberapa genotipe kedelai*. Bogor: Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, IPB.
- Krisnawati, H., M. Kallio, dan M. Kanninen. 2011. *Aleurites moluccana (L.) Willd. Ekologi, Silvikultur dan Produktivitas*. Bogor: CIFOR.
- Kristanti, I., N.A. Habibah dan L. Herlina. 2013. Optimasi Konsentrasi 2,4-D, Ba, dan Lama Penyinaran untuk Memacu Regenerasi Tunas dari Kalus Kedelai. *Jurnal Biosantifika*. 5(1): 51-57.
- Latunra, A.I., A. Masniawati., W. Aspianti dan M. Tuwo. 2017. Induksi Kalus Pisang Barangan Merah *Musa acuminata* Colla dengan Kombinasi Hormon 2,4D dan BAP Secara *In Vitro*. *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan*. 8 (14): 53-61.
- Lestari, E. G. 2011. Peranan Zat Pengatur Tumbuh dalam Perbanyak Tanaman Melalui Kultur Jaringan. *Jurnal AgroBiogen*, 7 (1): 63-68.
- Lizawati. 2012. Proliferasi Kalus dan Embriogenesis Somatik Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) dengan Berbagai Kombinasi ZPT dan asam amino. *Jurnal program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Jambi*. 1(4): 256-265.
- Lizawati., Neliyati dan R. Desfira. 2012. Induksi kalus eksplan daun durian (*Durio zibethinus* Murr. Cv. Selat Jambi) pada beberapa kombinasi 2,4D dan BAP. *Jurnal program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Jambi*. 1(1): 19 – 25.
- Lukmana, M., dan L. Rahmawati. 2016. Kondisi Eksplan DAun Karet (*Hevea brasiliensis*) Terhadap Perlakuan Sterilisasi Dalam Kultur *In Vitro*. *Jurnal Budidaya Tanaman Perkebunan Politeknik Hasnur*. 2 (2): 61-66.
- Mahadi, I., W. Syafi'i, 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)*. Vol. 21 (2): 84-89.
- Missouri Botanical Garden. 1971. *Aleurites moluccana (L.) Willd* <http://www.tropicos.org/Name/100143322> [Diakses pada 1 Agustus 2018].
- Nuswamarhaeni, S., P. Diah dan P. E. Puspita. 1991. *Mengenal Buah Unggul Indonesia*. Jakarta: Penebar Swadaya.



- Prabakti, H.D. 2017. Pengaruh Macam Eksplan dan Konsentrasi 2,4D Terhadap Induksi Kalus Kluwek (*Pangium edule* Reinw.) Secara In Vitro. *Jurnal Agrotech.* 3 (2): 39-58.
- Purnamaningsih, R. 2006. Induksi Kalus dan Optimasi Regenerasi Empat Varietas Padi melalui Kultur In Vitro. *Jurnal Agro Biogen* 2(2):74-80.
- Puteri R.F., E. Ratnasari dan Isnawati. 2014. Pengaruh Penambahan Berbagai Konsentrasi NAA (*Napthalene Acetic Acid*) dan BAP (*Benzyl Amino Purine*) terhadap Induksi Kalus Daun Sirsak (*Annona muricata*) secara In Vitro. *Jurnal Lentera Bio.* 3(3): 154–159
- Rahayu B., Solikhatun dan Anggarwulan. 2003. Pengaruh Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) terhadap Pembentukan dan Pertumbuhan Kalus serta Kandungan Flavonoid Kultur Kalus *Acalypha indica* L. *Jurnal Biofarmasi* 1(1): 1-6.
- Red List IUCN, 2017. <http://www.iucnredlist.org/search>. [13 Febuari 2018].
- Rosyidah, M., E. Ratnasari dan Y. S. Rahayu. Induksi Kalus Daun Melati (*Jasminum sambac*) Dengan Penambahan Konsentrasi *Dichlorophenoxy Acetic Acid* (2,4D) dan 6-*Benzyl Amino Purine* (BAP) Pada Meda MS Secara In Vitro. *Jurnal Lentera Bio.* 3(3): 147–153.
- Santoso, U. dan F. Nursandi. 2004. *Kultur Jaringan Tanaman*. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang Press.
- Satyavathi, V.V., P.P. Jauhar., E.M. Elias and M.B. Rao. 2004. Genomics, molecular genetic and biotechnology effects of growth regulators on *in vitro* plant regeneration. *Crop Science.* 44(5): 1839-1846.
- Scott, S. dan Craig, T. 2000. *Poisonous plants of paradise: first aid and medical treatment of injuries from Hawaii's plants*. Honolulu, Hawaii, AS.: University of Hawaii Press.
- Simamora, I., R. M. Lubis dan M. K. Harahap. 2015. Pematihan Domarsi Secara Fisik, Kimia dan Pengaruh Lama Penyimpanan Terhadap benih Kemiri (*Aleurites moluccana* Willd). *Grahatani.* 1(3): 25 – 34.
- Sitinjak, R.R., O. Rostiana, Karyono dan T. Supriatun. 2006. Pengaruh 2,4-D dan BA Terhadap Induksi Kalus Embriogenik Pada Kultur Meristem Jahe (*Zingiber officinale* Rosc.). *Jurnal Ilmiah Nasional.* 8 (2) : 115-120.

- Smith R. 2012. *Plant Tissue Culture*. <http://elsevier/books/plant-tissueculture/smith>. [18 Desember 2018].
- Sugiyarto, L. dan Paramita C.K. 2014. Pengaruh 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) Dan Benzyl Aminopurin (BAP) Terhadap Pertumbuhan Kalus Daun Binahong (*Anredera cordifolia* L.) Serta Analisis Kandungan Flavonoid Total. *Jurnal Penelitian Saintek*. 19(1): 23-30.
- Sukmajaja D, dan Mariska I.2003. *Perbanyak Bibit Jati melalui Kultur Jaringan*. Bogor: Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian.
- Suryowinoto, M. 1996. *Pemuliaan Tanaman Secara In Vitro*. Yogyakarta: Kanisius.
- Suwarto., Y. Octavianty, dan S. Hermawati. 2014. *Top 15 Tanaman Perkebunan*. Jakarta: Swadaya.
- Syahid, S.F., N.N. Kristin dan D. Seswita. 2010. Pengaruh Komposisi Media Terhadap Pertumbuhan Kalus dan Kadar Tannin Dari Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk) Secara *In Vitro*. *Jurnal Litri*. 16(1): 1–5.
- Tjitrosoepomo, G. 1985. *Morfologi Tumbuhan*. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada press.
- Toharah, N. I., D. S. D. Jekti dan L. Zulkifli. 2015. Partumbuhan Kalus Daun Melon (*Cucumis melo*) Varietas MAI 119 Dengan Pemberian BAP (6-Benzyl Amino Purine) dan 2,4 D (*Dichlorophenoxy Acetic Acid* ). *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*. 1(2): 38- 48.
- Wattimena, G. A. 1988. *Zat Pengatur Tumbuh Tanaman*. Bogor: PAU IPB.
- Wetherell, D. F. 1982. *Pengantar Propagasi Tanaman secara In Vitro*. Diterjemahkan oleh Koensomardiyah. Semarang: IKIP Semarang Pres.
- Widyawati, G. 2010. *Pengaruh Variasi Konsentrasi NAA dan BAP Terhadap Induksi Kalus Jarak Pagar*. Tesis. Surakarta: Universitas Sebelah Maret press.
- Wijaya, N. R., D. Suharto dan H. Sudrajad. 2017. Pengaruh BAP dan 2,4 D Terhadap Inisiasi dan Pertumbuhan Kalus Pulesari (*Alyxia reinwardtii* Blume). *Jurnal Pertanian Agros*. 19(1): 37- 44.

- Wilujeng, S. dan V. Agustini. 2017. Studi Awal Kultur Biji Sowang (*Xanthostemon novaguineense* Valet.) Secara In Vitro. *Jurnal Biodjati*. 2 (1): 64-71.
- 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.
- Yelnititis. 2012. Pembentukan Kalus Remah Dari Eksplan Daun Ramin (*Gonystylus bancanus* (Miq) Kurz.). *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*. 6(3): 181 – 194.
- Yuliarti, N. 2010. *Kultur Jaringan Tanaman Skala Rumah Tangga*. Yogyakarta: Lily Publisher.
- Zhao, J., Morozova N., Williams L., Libs L., Avivi Y., dan Grafi G. 2001. Two phases of chromatin decondensation during dedifferentiation of plant cells: distinction between competence for cell fate switch and acommitment for S phase. *Journal Biol. Chem*. 276(25): 22772– 22778.
- Zulkarnain dan Lizawati. 2011. Proliferasi Kalus dari Eksplan Hipokotil dan Kotiledon Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) Pada Pemberian 2,4-D. *Jurnal Natur Indonesia*. 14(1): 19-25
- Zulkarnain. 2009. *Kultur Jaringan Tanaman*. Jakarta : Bumi Aksara.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Komposisi media WPM (*Woody Plant Media*)

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

(Sumber: Ali dkk., 2009)