

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Multiplikasi adalah kegiatan memperbanyak calon tanaman dengan menanam eksplan pada media. Kegiatan ini dilakukan di *Laminar Air Flow* untuk menghindari adanya kontaminasi yang menyebabkan gagalnya pertumbuhan eksplan (Kusuma, 2009). Pada penelitian ini dilakukan proses multiplikasi dengan pengamatan selama 4 minggu, menggunakan media pertumbuhan MS (Murashige Skoog) yang merupakan media standar untuk multiplikasi tanaman, termasuk tanaman tin. ZPT yang ditambahkan ke dalam media yaitu auksin dan sitokinin. Golongan sitokinin digunakan BAP (*Benzyl Amino Purin*), sedangkan golongan auksin digunakan NAA (*Naphthalena Acetid Acid*). Sitokinin dan auksin merupakan dua jenis zat pengatur tumbuh yang sering digunakan untuk induksi morfogenetik tanaman (Zulkarnain, 2009).

Pengujian dilakukan menggunakan 8 konsentrasi ZPT dengan 3 kali pengulangan (*triplo*) pada setiap konsentrasinya, untuk membedakan masing-masing sampel yang dikerjakan secara triplo dibedakan dengan penamaan yaitu eksplan no.1, eksplan no.2, dan eksplan no.3. Pengamatan dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif, diamati tiap minggunya selama 4 minggu. Untuk pengamatan kualitatif dilakukan secara visual dengan melihat warna eksplan sedangkan pengamatan secara kuantitatif dilakukan dengan menghitung banyaknya jumlah daun, jumlah akar, jumlah tunas, dan mengukur panjang eksplan. Penapisan fitokimia dilakukan pada penelitian untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder dari eksplan tanaman tin hasil multiplikasi.

4.1. Hasil Pengamatan Kualitatif

Pengamatan secara kualitatif dilakukan dengan mengamati warna eksplan selama 4 minggu secara visual. Hasil pengamatan tiap minggu menunjukkan, hampir semua warna eksplan berwarna hijau. Beberapa eksplan mengalami perubahan warna menjadi kekuningan di MST 3, perubahan warna disebabkan ada

pengaruh hormon oleh media. Pada MST 3 dan MST 4 terlihat, adanya media yang kontaminasi yaitu pada salah satu kelompok media NAA 0,1 ppm, NAA 0,2 ppm, dan NAA 0,4 ppm. Kontaminasi pada kultur jaringan dapat berasal dari eksplan, organisme kecil yang masuk ke dalam media, dan pengerjaan yang tidak aseptik (Gunawan, 2008). Kontaminasi pada media dan eksplan terjadi karena adanya jamur ataupun bakteri yang tidak mati pada saat sterilisasi media maupun yang masuk dalam media pada saat proses penanaman, atau saat pemeliharaan (Hartati, 2013).

Kontaminasi jamur ditandai dengan terbentuknya hifa berwarna putih sampai kecoklatan terlihat jelas pada media dan eksplan diselimuti oleh spora berbentuk kapas berwarna putih, sedangkan kontaminasi bakteri ditandai dengan adanya lendir pada media gumpalan yang basah (Nisa, 2005). Kontaminasi yang terjadi pada penelitian ini disebabkan oleh bakteri dan jamur. Terlihat pada permukaan media terdapat lendir basah berwarna keputihan dan terlihat juga pada permukaan media terdapat cendawan berwarna putih berbentuk seperti kapas.

Pada salah satu eksplan dengan media NAA 0,4 terdapat kalus yang tumbuh. Kalus merupakan sekumpulan massa sel yang terdeferensiasi menjadi organ tanaman. Proses terjadinya pembentukan kalus tergantung pada bagian yang dipakai sebagai eksplan dan zat tanam yang ditambahkan pada media dasar (Andaryani, 2010). Pertumbuhan kalus pada eksplan tanaman tin dapat dilihat pada gambar 4.2.



Gambar 4.2 Pertumbuhan kalus pada eksplan tanaman tin NAA 0,4 ppm (Dokumentasi pribadi, 2019).

Pada Gambar 4.2 terlihat adanya pertumbuhan kalus yang muncul pada eksplan tanaman tin, kalus tumbuh pada salah satu kelompok media NAA 0,4 ppm. Hal ini sesuai dengan pernyataan Thomy (2012), penambahan auksin dengan konsentrasi tinggi dapat memacu pembentukan kalus. Pertumbuhan kalus ini bukan

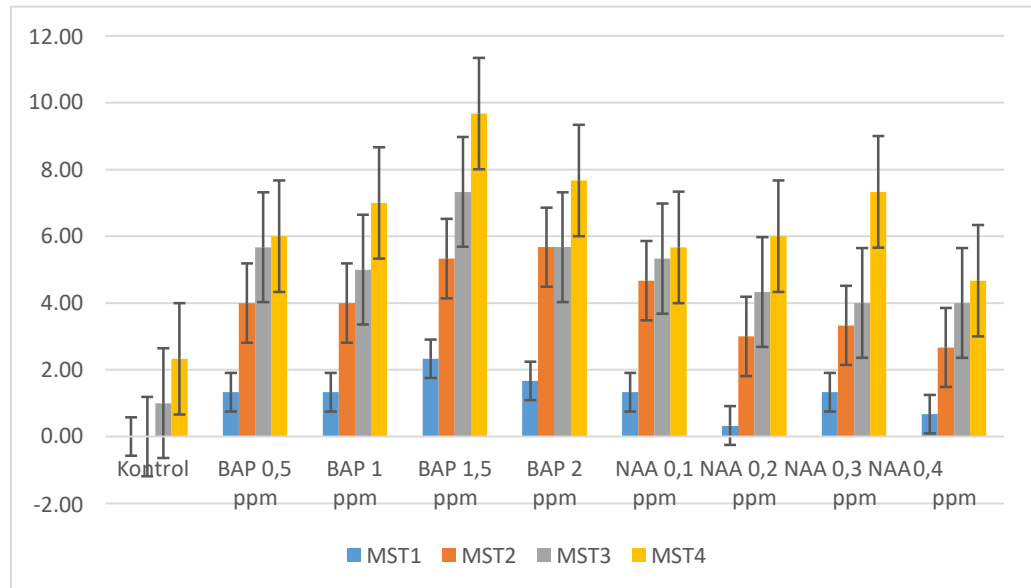
merupakan tujuan dalam penelitian, tetapi adanya pertumbuhan kalus ini merupakan salah satu kelebihan dari proses multiplikasi dalam kultur jaringan yang disebut dengan istilah organogenesis, organogenesis merupakan proses pembelahan sel-sel yang cepat dari sel kalus kemudian membentuk jaringan meristemoid yang akan berdiferensiasi membentuk meristem unipolar yang menghasilkan tunas atau akar (Indrianto, 2003).

4.2. Hasil Pengamatan Kuantitatif

Pengamatan secara kuantitatif dilakukan dengan mengamati banyaknya jumlah tunas, jumlah daun, dan jumlah akar yang tumbuh selama 4 minggu serta mengukur panjang eksplan tanaman tin. Hasil data pengamatan secara kuantitatif menunjukkan bahwa ZPT dapat memberikan pengaruh yang berbeda-beda terhadap pertumbuhan eksplan tanaman tin. Untuk mengetahui adanya perbedaan bermakna antara media kontrol dengan media uji maka digunakan ANOVA untuk menganalisis hasil data.

4.2.1. Jumlah Tunas

Pengamatan jumlah tunas dilakukan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi ZPT terhadap pertumbuhan tunas tanaman tin. Pembentukan tunas merupakan salah satu faktor penting dalam perbanyakan tanaman dengan metode kultur jaringan. Semakin cepat muncul tunas maka semakin cepat dihasilkannya bahan penunjang untuk perbanyakan tanaman (Nursetiadi, 2008). Jumlah tunas merupakan faktor terpenting dalam multiplikasi tanaman pada kultur jaringan. Dalam kultur jaringan jumlah tunas dapat diindikasikan sebagai keberhasilan dalam proses multiplikasi. Semakin banyak tunas yang terbentuk maka dapat dilakukan multiplikasi kultur selanjutnya untuk mendapatkan tunas-tunas baru dalam jumlah yang semakin banyak pula (Noviana, 2014). Hasil pengamatan jumlah tunas dapat dilihat pada Gambar 4.3



Gambar 4.3 Diagram hasil jumlah tunas eksplan tanaman tin
Keterangan: MST = Minggu Setelah Tanam

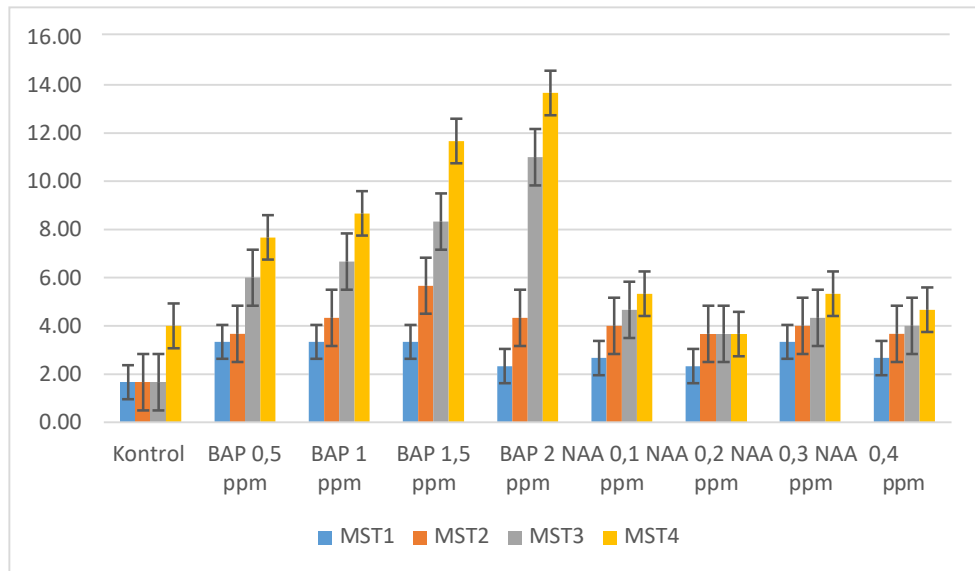
Dari Gambar 4.3 dapat diketahui bahwa kelompok BAP 1,5 ppm memiliki nilai yang lebih besar dibandingkan dengan kelompok uji lain. Hal ini menunjukkan bahwa ZPT sitokinin yaitu BAP dengan konsentrasi 1,5 ppm mampu mengoptimalkan eksplan dalam proses pembentukan tunas. Hal ini sesuai dengan pernyataan Mashud (2013), bahwa peran utama BAP adalah merangsang pertumbuhan dan perkembangan tunas yang dalam perkembangan selanjutnya berkembang menjadi daun. BAP bekerja dengan cara berinteraksi dengan sisi target substrat untuk merangsang dan mensintesis protein yang selanjutnya membentuk tunas.

Hasil analisis data menggunakan ANOVA untuk pertumbuhan jumlah tunas pada eksplan, dapat menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) dari masing-masing kelompok terhadap pertumbuhan jumlah tunas. Hasil analisis *tukey* menunjukkan kelompok uji memiliki perbedaan bermakna jika dibandingkan dengan media kontrol, hasil analisis ANOVA menunjukkan adanya perbedaan bermakna pada kelompok BAP 1,5 ppm.

4.2.2. Jumlah Daun

Pengamatan jumlah daun dilakukan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi ZPT terhadap pertumbuhan daun pada eksplan tanaman tin dalam proses multiplikasi. Daun merupakan organ fotosintesis utama bagi tumbuhan, meskipun batang yang berwarna hijau juga melakukan fotosintesis

(Bowo, 2011). Pengamatan jumlah daun pada penelitian sangat diperlukan, karena jumlah daun merupakan salah satu indikator pertumbuhan pada tanaman serta sebagai data penunjang untuk menjelaskan proses pertumbuhan yang terjadi. Semakin banyak jumlah daun yang muncul atau tumbuh, maka semakin mengindikasikan bahwa pertumbuhan eksplan pada tanaman baik juga (Acima, 2006). Hasil pengamatan dapat dilihat pada Gambar 4.4



Gambar 4.4 Diagram hasil jumlah daun eksplan tanaman tin
Keterangan: MST = Minggu Setelah Tanam

Dari Gambar 4.4 dapat diketahui bahwa kelompok BAP 2 ppm memiliki nilai yang lebih besar dibandingkan dengan kelompok uji lain. Terlihat bahwa kelompok uji yang menggunakan ZPT BAP memiliki jumlah daun yang lebih banyak dibandingkan dengan kelompok uji yang menggunakan NAA. Hasil ini sesuai dengan pernyataan Manullang *et al* (2003), bahwa NAA bermanfaat untuk proses pemanjangan sel pada jaringan tunas muda sedangkan BAP dapat merangsang pembentukan organ-organ tanaman. BAP bekerja melalui pengaturan enzim yang mengatur plastisitas dan elastisitas dinding sel sehingga terjadi pembesaran sel-sel, kemudian sel akan membelah dan berdiferensiasi.

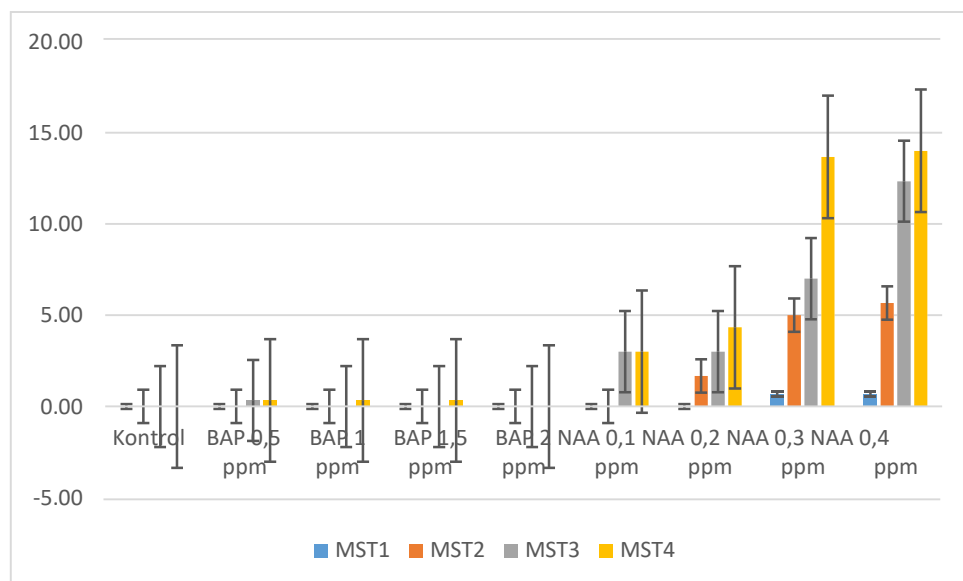
Takei (2001) dikutip Oksana (2012) mengungkapkan bahwa pertumbuhan sel pada tanaman dirangsang oleh sitokinin, selanjutnya sel-sel yang membelah tersebut akan berkembang menjadi tunas, cabang dan daun. Itu sebabnya penggunaan ZPT BAP lebih memberikan pengaruh terhadap

jumlah daun pada eksplan tanaman tin dibandingkan dengan ZPT NAA. Pada kelompok NAA 0,1 ppm terdapat eksplan yang terkena kontaminasi sehingga menyebabkan penurunan jumlah daun setiap minggunya. Kontaminasi terlihat di MST3.

Hasil analisis data menggunakan ANOVA untuk pertumbuhan jumlah daun pada eksplan dapat menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) dari masing-masing kelompok terhadap pertumbuhan jumlah daun. Hasil analisis *tukey* menunjukkan kelompok uji memiliki perbedaan bermakna jika dibandingkan dengan media kontrol, adanya perbedaan bermakna ditunjukkan pada kelompok BAP 1,5 ppm dan BAP 2 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa sitokinin BAP juga mempengaruhi pertumbuhan jumlah daun.

4.2.3 Jumlah Akar

Pengamatan jumlah akar dilakukan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi ZPT terhadap pertumbuhan akar tanaman tin. Jumlah akar yang tumbuh pada proses kultur jaringan menunjukkan eksplan sehat dan mampu menyerap nutrisi dari media secara optimal. Zulkarnain (2009) mengatakan bahwa akar berfungsi sebagai alat untuk menyerap unsur hara dan nutrisi serta sebagai penopang tubuh tanaman. Hasil pengamatan jumlah akar eksplan tanaman tin dapat dilihat pada Gambar 4.5



Gambar 4.5 Diagram hasil jumlah akar eksplan tanaman tin
Keterangan: MST = Minggu Setelah Tanam

Dari Gambar 4.5 dapat diketahui bahwa kelompok NAA 0,4 ppm memiliki nilai yang lebih besar dibandingkan dengan kelompok uji lain. Menurut Pradhan *et al* (2013), pertumbuhan akar pada eksplan sangat dipengaruhi oleh kehadiran ZPT auksin yang relatif tinggi. Penelitian Marlin (2005) menyatakan bahwa pada level auksin yang lebih tinggi daripada sitokinin, maka morfogenesis jaringan akan lebih mengarah pada pembentukan akar. Himanen, *et al* (2002) menyatakan bahwa auksin memicu terjadinya pembelahan sel, sehingga diperlukan untuk pembentukan akar. NAA bekerja dengan mengeluarkan H^+ ke dinding sel yang dapat menurunkan pH sehingga terjadi pengenduran dinding sel dan pertumbuhan yang cepat. NAA dengan pH rendah dapat mengaktifkan enzim, enzim ini dapat memutuskan ikatan pada polisakarida dinding sel sehingga dinding sel lebih mudah meregang dan dapat mempercepat pertumbuhan akar.

Terhambatnya pertumbuhan akar pada media uji BAP di MST 1, 2, dan 3 dikarenakan, ZPT BAP bukan merupakan zat yang fokus terhadap induksi pertumbuhan akar, BAP lebih terfokus pada pembentukan tunas tanaman tin. Menurut Murti (2017) penambahan sitokinin dalam berbagai konsentrasi tidak diperlukan untuk kecepatan pembentukan akar karena tidak ada satupun eksplan yang mampu berakar pada medium yang diberi tambahan sitokinin. Dengan penambahan BAP eksplan lebih terfokus pada multiplikasi tunas daripada memunculkan akar.



Gambar 4.6 Pertumbuhan akar pada bagian batang eksplan tanaman tin (Dokumentasi pribadi, 2019).

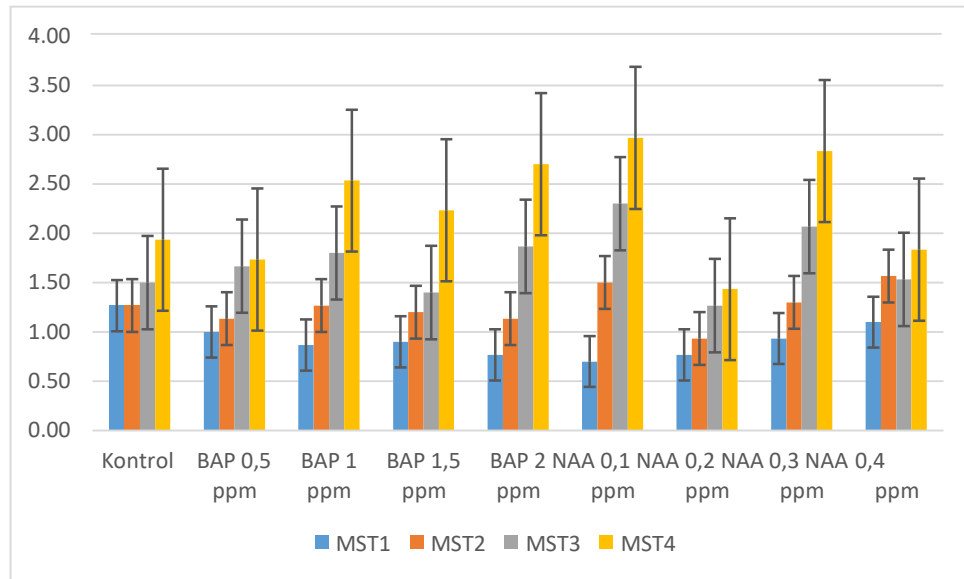
Pada Gambar 4.6 terlihat eksplan dengan pemberian ZPT NAA 0,4 ppm muncul akar dibagian batang eksplan, yang disebut dengan istilah organogenesis. Organogenesis merupakan tumbuhnya sel atau jaringan

meristematik tanaman pada medium tertentu untuk menginduksi terbentuknya meristem unipolar. Meristem unipolar yang dimaksud yaitu tumbuhnya primordia tunas atau primordia akar, yang dipengaruhi oleh hormon auksin dan sitokinin baik endogen maupun eksogen (Saptari, 2017). Menurut pendapat Salisbury dan Ross (1993) dikutip Hartati, *et al* (2016), tunas mikro yang dikulturkan pada medium yang diperkaya dengan NAA juga membentuk akar liar. Akar ini tumbuh menyebar pada batang tunas mikro. Semakin tinggi konsentrasi NAA, jumlah akar liar yang terbentuk semakin banyak karena auksin memacu perkembangan akar liar.

Hasil analisis data menggunakan ANOVA untuk pertumbuhan jumlah akar pada eksplan, dapat menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) dari masing-masing kelompok terhadap pertumbuhan jumlah akar. Hasil analisis *tukey* menunjukkan kelompok uji memiliki perbedaan bermakna jika dibandingkan dengan media kontrol, adanya perbedaan bermakna ditunjukkan pada kelompok NAA 0,3 ppm dan NAA 0,4 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa NAA memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan akar pada eksplan tanaman tin. Menurut Panjaitan (2005), bahwa NAA merupakan golongan auksin yang digunakan dalam pembesaran dan diferensiasi akar sehingga dengan adanya peningkatan konsentrasi NAA dapat meningkatkan pertumbuhan akar planlet tanaman.

4.2.3. Panjang Eksplan

Pengamatan panjang eksplan dilakukan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi ZPT terhadap panjang eksplan tanaman tin. Panjang tanaman merupakan ukuran tanaman yang sering diamati sebagai indikator pertumbuhan maupun parameter yang digunakan untuk mengukur pengaruh lingkungan atau perlakuan yang diterapkan (Hartati *et al*, 2016). Hasil pengamatan dapat dilihat pada Gambar 4.6



Gambar 4.7 Diagram hasil panjang eksplan tanaman Tin
Keterangan: MST = Minggu Setelah Tanam

Dari Gambar 4.7 terlihat bahwa kelompok NAA 0,1 ppm yang memiliki nilai lebih besar dibandingkan dengan kelompok uji lain. Hartati, *et al* (2016), menunjukkan bahwa pemberian NAA berpengaruh nyata terhadap pertambahan tinggi planlet. Hal ini karena akar dapat menyerap nutrisi yang berada dalam media kultur sehingga dapat digunakan untuk pertumbuhan tanaman termasuk juga pertambahan tinggi. Akar juga dapat mensintesis sitokinin sehingga kandungan sitokinin endogen menjadi meningkat. Peningkatan level sitokinin endogen ini dapat meningkatkan pertambahan tinggi planlet.

Hasil analisis data menggunakan ANOVA untuk panjang eksplan, dapat menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) dari masing-masing kelompok terhadap panjang eksplan. Hasil analisis *tukey* menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna antara media kontrol dengan media uji. Hal ini karena untuk memperpanjang eksplan tanaman tin dibutuhkan penggunaan kombinasi ZPT antara sitokinin dan auksin. Jika hanya digunakan salah satu dari ZPT tersebut maka pemanjangan eksplan tanaman tin kurang optimum.

4.3. Hasil Penapisan Fitokimia Eksplan Tanaman Tin (*Ficus carica L.*)

Penapisan fitokimia dilakukan pada ekstrak etanol eksplan tanaman tin hasil kultur yang telah diekstraksi menggunakan etanol 96%. Tujuan dilakukan proses ekstraksi yaitu untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada eksplan tanaman tin hasil kultur. Penapisan fitokimia dilakukan pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol eksplan tanaman tin hasil multiplikasi dengan teknik kultur jaringan. Menurut Santoso (2003), produksi metabolit sekunder telah mengalami kemajuan yang pesat. Salah satu aspek yang semakin berkembang adalah proses produksi metabolit sekunder melalui kultur jaringan tanaman. Mariska (2013) menyebutkan bahwa senyawa metabolit sekunder pada tanaman memiliki beberapa fungsi, diantaranya sebagai atraktan (menarik serangga penyerbuk), melindungi dari stress lingkungan, pelindung dari serangan hama/penyakit (fitoaleksin), pelindung dari sinar ultra violet, sebagai zat pengatur tumbuh dan untuk bersaing dengan tanaman lain (alelopati). Metabolit sekunder terutama berfungsi untuk ketahanan terhadap predator dan patogen (Croteau, *et al.* 2000, Leiss, *et al.* 2011). Selain memberikan manfaat bagi tanaman, senyawa metabolit sekunder tertentu juga dapat dimanfaatkan oleh manusia salah satu contohnya yaitu sebagai antioksidan atau bahan baku obat (Setyorini, 2016).

Tabel 4.1 Hasil penapisan fitokimia ekstrak etanol eksplan tanaman tin

Pengujian	Hasil uji	Referensi	
		Ekstrak Buah Tin (Romauli, 2018)	Ekstrak Daun Tin (Hartati, 2017)
Flavonoid	+	+	+
Alkaloid	+	-	-
Tanin	+	-	+
Saponin	-	-	-
Fenolat	+	+	+
Steroid dan Triterpenoid	+	-	-
Kuinon	+	+	Tidak diuji
Monoterpen dan Seskuiterpen	+	+	Tidak diuji

Keterangan : (+) = Terdeteksi

(-) = Tidak terdeteksi

Dari Tabel 4.1 dapat dilihat bahwa hasil pengujian penapisan fitokimia pada ekstrak etanol eksplan tanaman tin hasil multiplikasi, menunjukkan hasil positif yang lebih banyak dibandingkan dengan ekstrak etanol buah tin dan ekstrak etanol

daun tin yang dilakukan peneliti sebelumnya. Hal ini menunjukkan bahwa teknik kultur jaringan serta ZPT dapat mempengaruhi kandungan senyawa metabolit sekunder dari eksplan tanaman Tin hasil multiplikasi. Eksplan tanaman tin hasil multiplikasi memiliki kandungan flavonoid, alkaloid, tannin, fenolat, sterpid dan triterpenoid, kuinon, momoterpen dan seskuiterpen. Menurut Hanani (1993) dikutip oleh Wardani (2015), selain mempengaruhi perpanjangan, pembelahan dan diferensiasi sel, zat pengatur tumbuh juga mempengaruhi terbentuknya metabolit sekunder, baik dalam jumlah maupun macamnya. Pemberian zat pengatur tumbuh dapat mempengaruhi produksi metabolit sekunder, hal ini disebabkan zat pengatur tumbuh yang ditambahkan dapat menyebabkan perubahan fisiologi dan biokimia tanaman melalui pengaturan kerja enzim. Zat pengatur tumbuh akan menginduksi sintesis enzim yang ekspresinya tergantung sintesis RNA dan protein. Peningkatan jumlah enzim yang terlibat dalam metabolit sekunder juga akan meningkatkan senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan (Wardani, dkk., 2003). Menurut Wattimena (1991) dikutip oleh Wardani (2015), Zat pengatur tumbuh berperan dalam pengikatan membran protein yang berpotensi untuk aktivitas enzim. Hasil pengikatan ini mengaktifkan enzim tersebut dan mengubah substrat menjadi beberapa produk baru. Produk baru yang terbentuk ini menyebabkan serentetan reaksi-reaksi sekunder salah satunya adalah pembentukan metabolit sekunder.