

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Kontribusi jenis tanaman umbi-umbian sebagai sumber pangan alternatif dalam pemenuhan kebutuhan pangan berkualitas dapat memberikan pengaruh signifikan terhadap ketahanan pangan, dan merupakan bahan pangan yang aman untuk dikonsumsi oleh masyarakat yang menderita diabetes dan mengurangi kasus obesitas. Diversifikasi pangan di Indonesia sangat terbatas padahal diversifikasi pangan dapat digunakan sebagai acuan dalam menentukan mutu pangan. Diversifikasi konsumsi pangan pokok tidak dimaksudkan untuk mengganti beras secara keseluruhan atau total, namun mengubah pola konsumsi masyarakat sehingga masyarakat akan lebih banyak mengonsumsi lebih banyak jenis pangan dan lebih baik gizinya. Dengan demikian bahan pangan akan lebih beragam, bergizi dan berimbang. Sehingga diversifikasi pangan dengan umbi-umbian diharapkan dapat membantu ketahanan pangan dan meningkatkan kesehatan di masyarakat.

Salah satu jenis umbi yang dapat digunakan dalam diversifikasi pangan adalah ubi gembili. Sudah lama masyarakat Papua membudidayakan umbi gembili mesti tidak secara masal. Umbi gembili biasanya dikonsumsi dengan cara direbus. Gembili dianggap sebagai tumbuhan yang berpotensi besar dimasa depan karena kandungan karbohidrat didalam ubi gembili yaitu glukomanan dapat membantu dalam program diet. Glukomanan merupakan serat yang tinggi sehingga akan menjaga rasa kenyang, kandungan glukomanan dapat menyatu dengan protein yang dapat mengurangi kolesterol didalam tubuh manusia. Bibit gembili yang mulai langka menyebabkan keberadaan tanaman gembili sangat jarang ditemui dimasyarakat, di wilayah papua barat sendiri masyarakat setempat masih mengandalkan ketersediaan umbi gembili dari alam, mereka terbiasanya menanam umbi gembili di hutan tanpa adanya budidaya yang baik. Dengan demikian dikawatirkan umbi gembili mulai terancam keberadaannya. Oleh karena itu diperlukan teknologi dalam teknik perbanyakan yang dapat

memperbanyak bibit gambili dengan singkat tanpa membutuhkan asal bibit dalam jumlah banyak.

Penyediaan bibit gambili selama ini oleh masyarakat ditempuh secara konvensional dengan menggunakan umbi. Namun, cara tersebut membutuhkan waktu yang lebih lama untuk menghasilkan bibit dalam jumlah yang banyak. Disamping itu perbanyakn secara konvensional terdapat banyak kendala dimulai dari musim yang tidak menentu hingga serangan hama dan penyakit tanaman yang dapat menurunkan kualitas maupun kuantitas tanaman gambili. Dengan demikian pemanfaatan bioteknologi diharapkan dapat membantu dalam perbanyakn tanaman gambili secara masal dan cepat, di antaranya melalui pemanfaatan teknik kultur *in-vitro*. Kultur *in-vitro* dapat dimanfaatkan untuk tujuan perbanyakn klon unggul maupun perbaikan sifat tanaman melalui *in-vitro* mutagenesis dan seleksi *in-vitro*. Teknik kultur jaringan juga diperlukan alam transformasi genetik untuk meregenerasikan sel tanaman yang telah ditransformasi.

Metode induksi kalus dan regenerasi gambili yang efisien melalui kultur *in-vitro* sangat diperlukan dengan keterbatasan sumber eksplan yang tersedia. Induksi kalus merupakan tahap awal dari teknik kultur *in-vitro* yang bertujuan untuk menghasilkan dan memperbanyak sel kalus secara masal. Kalus merupakan sumber bahan tanam yang sangat penting dalam meregenerasi tanaman karena setiap sel tanaman memiliki kemampuan membentuk individu baru. Oleh karena itu, upaya induksi kalus yang efisien merupakan tahap penting dalam rangka mendapatkan bibit gambili yang cepat dalam jumlah banyak. Strategi kultur jaringan melalui induksi kalus sangat efektif karena kalus dapat diinisiasi dari bagian tanaman manapun seperti daun dan batang tanaman. kegiatan kultur melalui proses pembentukan kalus merupakan satu teknik yang digunakan untuk menghasilkan bibit tanaman bebas penyakit dan virus, karena kalus akan membelah terus menerus. Manfaat kultur kalus lainnya adalah untuk dimanfaatkan dalam mempelajari metabolisme dan deferensiasi sel, morfogenesis sel, variasi somaklonal, transformasi genetik serta produksi metabolit sekunder yang banyak digunakan oleh negara-negara maju dalam bidang industri kosmetik dan obat-obatan.

Dalam kegiatan kultur *in-vitro* pengetahuan media kultur *in-vitro* amat penting karena merupakan jalan pembuka untuk suksesnya tahap pelaksanaan kultur *in-vitro*. Media kultur *in-vitro* ini komponen utamanya adalah unsur hara makro, mikro ditambah dengan gula sebagai pengganti unsur karbon yang didapat dari hasil fotosintesis. Perkembangan selanjutnya adalah penambahan vitamin-vitamin, asam-asam amino, bahan-bahan organik yang ternyata memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan komposisi yang terdiri dari unsur hara makro mikro saja (Sandra dkk., 2016).

Selain unsur hara, zat pengatur tumbuh (ZPT) sangat diperlukan dalam mencapai tujuan pertumbuhan yang diinginkan secara *in-vitro*. Dalam kultur kalus, dua ZPT yang sering digunakan untuk perangsang perbanyakan kalus yaitu sitokinin dan auksin. Jenis dan konsentrasi dari masing-masing ZPT tergantung pada tujuan dan tahap pengulturan. ZPT yang umumnya digunakan adalah dari golongan *sitokinin derivat adenine*, seperti benziladenin (BA) atau *benzylaminopurine, furfurylaminopurine* (kinetin) dan *isopentenyladenine* (2-iP). Sedangkan dari golongan auksin, seperti 2,4-D (2,4 Diclorophenoxyacetic acid).

Berdasarkan penjelasan pendahuluan diatas dapat dikemukakan masalah yang ingin disampaikan yaitu:

1. Mengenalkan salah satu komoditas diversifikasi pangan kepada masyarakat khususnya komoditas umbi.
2. Penggunaan teknologi dalam pertanian untuk menghasilkan bibit dalam jumlah banyak dengan waktu yang singkat serta bahan yang terbatas.
3. Aplikasi zat pengatur tumbuh terhadap media kultur untuk menentukan jenis dan dosis yang tepat dalam perbanyakan tanaman secara *in-vitro* dengan sumber eksplan bagian tanaman yang berbeda.

1.2. Tujuan Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk menganalisis :

1. Pengaruh 2,4-D terhadap daya pembentukan kalus umbi gambeli asal bagian tanaman yang berbeda secara *in-vitro*.
2. Pengaruh penambahan BAP terhadap pembentukan kalus gambeli asal bagian tanaman yang berbeda secara *in-vitro*.

3. Pengaruh interaksi BAP dan 2,4-D terhadap daya pembentukan kalus umbi gembili asal bagian tanaman yang berbeda secara *in-vitro*

1.3. Kerangka Pemikiran

Keanekaragaman jenis ubi-ubian seperti gembili harus dipertahankan agar tidak punah ketersediaannya di alam. Dalam program diversifikasi tanaman, umbi-umbian merupakan salah bahan pokok yang dapat digunakan apakah untuk bahan substitusi, seperti tepung umbi, pati dan tepung komposit. Sehingga ragam bahan pangan masyarakat lebih beragam dan berimbang. Teknik kultur *in-vitro* dapat digunakan untuk mengkonservasi plasma nutfah umbi-umbian karena spesies ini sulit dikonservasi dalam bentuk biji. Masih banyak peluang penelitian dan pengujian untuk memperoleh metode konservasi *in-vitro* yang tepat bagi masing-masing jenis varietas.

Konservasi *in-vitro* merupakan alternatif metode konservasi yang dapat meminimalisir kendala konservasi *in-vivo*. Pada konservasi *in-vitro*, materi genetik ditanam di dalam botol dan disimpan dalam tempat yang terkontrol sehingga hanya memerlukan ruangan yang lebih sempit untuk menyimpan materi genetik dalam jumlah yang besar. Konservasi *in-vitro* juga mengurangi kehilangan atau matinya materi genetik akibat serangan hama dan penyakit karena ditanam pada media aseptik dalam botol (Budiarto dkk., 2020).

Komposisi media dan ZPT untuk masing-masing spesies, antar klon, atau varietas dalam satu spesies sering berbeda satu dengan lainnya. Sitokinin merupakan ZPT yang mendorong pembelahan (sitokinesis). Beberapa macam sitokinin merupakan sitokinin alami (misal : kinetin, zeatin) dan beberapa lainnya merupakan sitokinin sintetik. Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk meningkatkan pertumbuhan kalus adalah dengan menambahkan zat pengatur tumbuh ke dalam media. Ada dua jenis zat pengatur tumbuh yang digunakan dalam kultur *in-vitro*, yaitu sitokinin dan auksin. Penggunaan auksin bersama dengan sitokinin memungkinkan untuk menentukan jenis morfogenesis yang diinginkan (Handayani dkk., 2019).

Menurut Edi shandra (2016) dalam buku pelatihan kultur jaringan esha flora menyebutkan bahwa kalus dapat dihasilkan dari potongan organ yang telah steril,

didalam media yang mengandung auksin dan terkadang juga sitokinin. Pemberian hormon dalam konsentrasi yang tinggi maka eksplan akan tumbuh menjadi kalus. Kalus dapat diinisiasi dari hampir semua bagian tanaman seperti embrio muda, hipokotil, kotiledon dan batang muda merupakan bagian yang mudah untuk dideferensiasi dan menghasilkan kalus.

1.4. **Hipotesis**

Hipotesis dalam penelitian ini adalah :

1. Diduga ada pengaruh konsentrasi 2,4-D terhadap daya pertumbuhan kalus gambili dari asal eksplan yang berbeda secara *in-vitro*.
2. Diduga adanya pengaruh konsentrasi BAP terhadap daya pertumbuhan kalus gambili dari asal eksplan yang berbeda secara *in-vitro*.
3. Diduga adanya interaksi konsentrasi 2,4-D dan konsentrasi BAP terhadap daya pertumbuhan kalus gambili dari asal eksplan yang berbeda secara *in-vitro*.

1.5. **Kontribusi**

Diharapkan hasil penelitian ini dapat memberikan sumbangsih terhadap ilmu pengetahuan salah satunya dapat dijadikan sebagai bahan referensi dalam penelitian-penelitian selanjutnya dan diharapkan akan ada penelitian selanjutnya dengan harapan bisa mendapatkan bibit tanaman yang banyak dan sehat, sehingga dapat diterapkan dalam budidaya di lapangan kelak.

Penelitiannya ini juga dapat memberikan informasi kepada masyarakat tentang kegiatan diversifikasi pangan pokok dengan bahan utama adalah umbi-umbian serta dapat merangsang masyarakat untuk membudidayakan dan mengkonsumsi umbi-umbian sebagai kegiatan diversifikasi pangan pokok sehingga tidak selalu tergantung dengan bahan pokok beras dan terigu.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Diversifikasi Pangan

Pangan adalah segala sesuatu yang berasal dari sumber hayati produk pertanian, perkebunan, kehutanan, perikanan, peternakan, perairan, dan air, baik yang diolah maupun tidak diolah yang diperuntukkan sebagai makanan atau minuman bagi konsumsi manusia, termasuk bahan tambahan Pangan, bahan baku Pangan, dan bahan lainnya yang digunakan dalam proses penyiapan, pengolahan, dan atau pembuatan makanan atau minuman (Undang-undang RI No 18 2012).

Dengan adanya program revolusi hijau pada tahun 1970-1980 menyebabkan masyarakat beralih dari bahan pangan lokal seperti umbi-umbian beralih ke bahan pangan pokok beras. Hal ini mengakibatkan pola konsumsi pangan pokok masyarakat di Indonesia telah bergeser dari pola beragam menjadi pola tunggal yaitu beras. Pengertian pangan lokal dalam konteks nasional mengacu pada Undang-Undang Nomor 18 Tahun 2012 tentang Pangan (UU Pangan), adalah makanan yang dikonsumsi oleh masyarakat setempat sesuai potensi dan kearifan lokal, yaitu sumber daya pangan dan budaya makan setempat. Disebut pangan lokal apabila diproduksi dengan mengoptimalkan sumber daya setempat dan dikonsumsi secara turun-temurun oleh masyarakat setempat, baik dalam bentuk pangan segar maupun yang telah diolah sesuai budaya dan kearifan lokal, dan menjadi makanan khas daerah setempat.

Seringkali pemerintah hanya menganjurkan masyarakat untuk melakukan keanekaragaman konsumsi pangan dan bersifat hanya menyuruh tanpa didukung oleh ketersediaan bahannya yang dapat diperoleh secara mudah. Peran beras sebagai pangan pokok semakin kuat, yang ditunjukkan oleh tingkat partisipasi yang cukup tinggi di berbagai wilayah termasuk pada wilayah yang sebelumnya mempunyai pola pangan pokok bukan beras. Bahkan di beberapa provinsi, terjadi pergeseran pangan pokok dari beragam cenderung pola tunggal yaitu beras. Di sisi lain, pangan lokal seperti jagung, ubi jalar dan ubi kayu semakin ditinggalkan masyarakat (Mulyaningsih, 2021).

Bahan yang digunakan dalam program diversifikasi pangan salah satu bahannya adalah umbi gembili, dimana dari dahulu sudah dikonsumsi oleh masyarakat pedesaan sebagai bahan pangan pokok sebelum tergerus oleh pola konsumsi masyarakat ke bahan pangan beras. Alasan mengapa umbi gembili dijadikan sebagai salah satu bahan untuk program diversifikasi pangan adalah karena kandungan karbohidrat umbi gembili sangat tinggi, namun umbi gembili diimbangi oleh kandungan glukomanan disetiap hasil umbinya.

Hasil analisis proksimat umbi gembili diseksi asal papua barat dan perbandingan dengan data sumber yang lain ini dapat dilihat pada tabel dibawah ini.

Kandungan	Data Kandungan Nasi dan Umbi Gembili			
	Nasi (Fat Secret Platform (API 2012)	Hasil proksimat Gembili Aksesori Papua Barat	Gembili menurut Sabda dkk (2019)	Gembili Menurut Direktorat Gizi Kementerian Kesehatan RI
Air (%)		76.0887	85.00	66.4
Abu (%)	14.00	0.5510	14.00	1.0
Lemak (%)	0.506	0.4191	0.20	0.2
Protein (%)	2.66	0.7613	1.10	1.1
Serat Kasar (%)	0.40	1.2557	1.00	
Karbohidrat (%)	27.90	22.1800	31.30	31.30

Tabel 1. Perbandingan Hasil Uji Proksimat Umbi Gembili Aksesori Papua Barat dengan beberapa Sumber

Kandungan lemak dalam kandungan ubi gembili sangat rendah hanya 0.4191, menurut Nisa dkk (2020) lemak merupakan zat makanan penting yang mengandung sumber energi lebih efektif dibanding dengan karbohidrat dan protein. Menurut BPOM, kandungan lemak pada produk pangan dikategorikan rendah apabila nilainya tidak melebihi 3%. Dalam mengonsumsi lemak tidak boleh berlebihan, karena mengonsumsi lemak secara berlebihan akan mengakibatkan berkurangnya konsumsi makanan lain, hal ini disebabkan karena lemak berada didalam sistem pencernaan relatif lebih lama dibandingkan dengan protein dan karbohidrat, sehingga lemak menimbulkan rasa kenyang yang lebih lama (Kemenkes RI, 2014).

Kadar protein juga sangat rendah yaitu hanya 0.7613 sedangkan menurut SNI 01-7111.1-2005 yaitu kadar protein yang baik berkisar antara 8 - 22%. Sedangkan kandungan utama adalah karbohidrat 22.1800 masih dibawah kandungan karbohidrat nasi sehingga cocok untuk dijadikan pangan sehat hal ini disebabkan mengkonsumsi bahan pangan dengan kandungan Karbohidrat yang rendah akan mencegah terjadinya kegemukan dan diabetes.

2.2. Klasifikasi Tanaman Gembili

Iklim tropis Indonesia sangat mendukung untuk tumbuh dan berkembangnya berbagai jenis umbi-umbian. Keanekaragaman umbi-umbian di Indonesia sangat banyak dan salah satunya adalah tanaman Gembili (*Dioscorea esculenta* L.).

Sistematika tumbuhan gembili (*Dioscorea esculenta* L.) berdasarkan taksonominya adalah sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Sub kingdom	: <i>Tracheobionta</i>
Super Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Class	: <i>Liliopsida</i>
Ordo	: <i>Dioscoreales</i>
Famili	: <i>Diosoreaceae</i>
Genus	: <i>Dioscorea</i>
Spesies	: <i>Dioscorea esculenta</i> L
Namalokal	: Gembili

(Tri UdjePudjianto, 2014)



Gambar. 1. Tanaman dan Umbi Gembili
(sumber : www.faanadanflora.com/panduan-lengkap-cara-sukses-budidaya-tanaman-gembili-bagi-pemula).

2.3. Morfologi Tanaman Gembili

2.3.1. Akar

Akar dari gembili memiliki duri tetapi tidak sebanyak duri yang berada di batang. Duri pada akar ini dapat mengurangi kemungkinan adanya kerusakan yang disebabkan oleh binatang penggali dan babi hutan. Duri pada akar tersebut merupakan serabut akar yang halus dan tajam (Pudjianto, 2014).

2.3.2. Batang

Merupakan tanaman berduri yang merambat keatas. Jarang ditemukan tanaman gembili dengan tinggi lebih dari 3 meter. Batang dari gembili sangat kecil dengan diameter sekitar 1-3 milimeter. Ketika batang merambat, batang tanaman gembili memelintir kearah kiri (Pudjianto, 2014).

2.3.3. Daun

Daun dari tanaman gembili menyerupai jantung namun lebih bulat. Daun gembili sedikit berkerut dan permukaannya agak berbulu. Daun gembili tumbuh tunggal berselang-seling. Panjang dari daun bisa mencapai 12 cm dan lebar 15 cm. Sama seperti batang tanaman gembili, batang daun gembili juga ditumbuhi dengan duri (Pudjianto, 2014).

2.3.4. Umbi

Umbi gembili berbentuk bulat atau lonjong dengan diameter 6-8 cm dan panjang hingga 20 cm. Tebal kulit umbi sekitar 0,04 cm. Berat umbi sekitar 100-200 gram. Biasanya gembili dengan ukuran yang kecil dijadikan sebagai bibit. Umbi gembili tumbuh dibawah tanam dengan kedalaman dangkal. Gembili memiliki bentuk seperti kentang namun lebih panjang dan lebar. Bentuk dari gembili sangat dipengaruhi oleh tanah atau batu-batu yang ada didalam tanah. Setiap tanaman gembili menghasilkan umbi gembili sekitar 4-20 buah.

Banyaknya jumlah gembili yang dihasilkan tergantung dari varietas gembili tersebut serta lingkungan sekitar tempat gembili ditanam. Kulit umbi gembili sangat halus dan tipis serta terdapat serabut akar tidak beraturan. Daging gembili memiliki warna bervariasi dari putih, kuning pucat, sampai kehitaman (Pudjianto, 2014).

2.4. Glukomanan

Glukomana merupakan senyawa karbohidrat yang memiliki karakteristik yang khas dari selulosa dan galaktomanan, sehingga sangat banyak dimanfaatkan pada berbagai industri seperti industri *edible film*, industri makanan, cat, kosmetik, obat-obatan, bahan perekat, dan dalam industri lainnya. Glukomanan adalah polisakarida yang dapat larut dalam air dan dianggap sebagai serat pangan. *Polisakarida* larut air merupakan serat pangan larut air yang didefinisikan sebagai komponen dalam tanaman yang tidak terdegradasi secara enzimatis menjadi sub unit-sub unit yang dapat diserap dilambung dan usus halus. *Polisakarida* biasa juga disebut hidrokoloid, dewasa ini banyak sekali dimanfaatkan dalam industri makanan, guna mencapai kualitas yang diharapkan, dalam hal viskositas, stabilitas, tekstur, dan penampilan (Sareu, 2021). *Polisakarida* larut air dari kelompok *Dioscorea* mengandung polisakarida utama glukomanan. Hasil dari uji prosimat yang telah dilakukan menunjukkan karbohidrat umbi gembili tinggi, begitu pula merujuk dari sumber yang lain bahwasanya kandungan karbohidrat umbi gembili sangat tinggi, sehingga dapat dimanfaatkan sebagai tepung umbi, pati dan tepung komposit. Umbi gembili

memiliki potensi besar sebagai bahan makanan, menurut Herlina (2018) kandungan glukomanan pada umbi gembili sebesar 2,9%. Untuk industri makanan glukomanan terlebih dahulu diolah menjadi tepung sebagai bahan substitusi tepung terigu, namun banyak pula masyarakat yang mengkonsumsi umbi gembili secara langsung dengan cara di kukus maupun dibakar.

Sampai akhir tahun 1970 diyakini bahwa mencerna serat tertentu dapat memperbaiki toleransi glukosa pada orang normal dan pada penderita penyakit diabetes. Konsentrat kaya glukana dari *oat* atau produk *barley*, serta *Polisakarida* larut air dari *psyllium* menyebabkan perbaikan respon glikemik. Asupan tinggi serat direkomendasikan bagi penderita diabetes. Sifat *Polisakarida* larut air yang kental dan membentuk gel dapat menghambat penyerapan makronutrien dan menurunkan respon glukosa *postprandial* (Sareu, 2021).

2.5. Permasalahan Budidaya Gembili

Papua merupakan provinsi yang memiliki kekayaan sumber daya genetik yang sangat beragam, namun banyak dari sumberdaya itu belum diketahui manfaatnya. Kekayaan plasma nutfah lokal asli Papua harus mendapatkan perhatian agar tidak punah di kemudian hari. Erosi genetik yang terjadi terhadap plasma nutfah harus dikurangi dan dicegah oleh semua pihak dan perhatian yang serius terhadap varietas lokal tanaman harus terus dilakukan. Pengelolaan plasma nutfah yang optimal merupakan bagian kegiatan untuk menjaga sumber daya genetik agar tetap lestari, salah satunya dengan melakukan kegiatan konservasi dan karakterisasi (Sabda, 2019).

Permasalahan dalam budidaya gembili adalah tingkat pengetahuan masyarakat yang kurang mengenai tanaman gembili dan ketersediaan bibit yang belum mencukupi. Menurut Diantina dan Hutami (2014) salah satu penyebab rendahnya konsumsi umbi gembili adalah rendahnya tingkat produksi dan ketersediaannya di pasar. Hal ini disebabkan oleh masa panennya relatif lama dan tidak tersedianya benih atau bibit dalam jumlah besar untuk budidaya komersial, oleh karena itu perlu adanya sentuhan teknik yang dibarengi dengan teknologi dalam memperbanyak bibit gembili dan mengenalkannya kepada masyarakat. Banyak tanaman endemik yang mulai mengalami kepunahan, permasalahan

tersebut karena tingginya tingkat panen yang dilakukan oleh masyarakat, distribusi yang terbatas sampai rusaknya habitat tanaman endemik tersebut di alam (Sagharyan, 2020).

2.6. Teknik Perbanyakan Tanaman Secara Kultur *In-Vitro*

Kultur *in-vitro* atau biasa dikenal kultur jaringan adalah suatu metode untuk mengisolasi bagian dari tanaman seperti protoplasma, sel, sekelompok sel, jaringan dan organ, serta menumbuhkannya dalam kondisi aseptik, sehingga bagian-bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman utuh kembali. Perbanyakan tanaman yang dilakukan secara *in-vitro* yaitu dengan menyediakan nutrisi unsur makro, mikro, vitamin, hormon akan menghasilkan tanaman baru yang mempunyai sifat-sifat keturunan yang sama dengan induknya, pada mulanya Teknik kultur *in-vitro* hanya pembuktian teori totipotensi sel bahwa setiap sel mampu berkembang biak. Kemudian Teknik kultur *in-vitro* berkembang menjadi sarana penelitian dibidang fisiologi tanaman dan aspek-aspek biokimia tanaman serta industri tanaman (Indarto, 2019).

Tujuan pokok penerapan perbanyakan dengan Teknik kultur *in-vitro* adalah produksi tanaman dalam jumlah besar pada waktu singkat yang biasanya perbanyakan sulit dan lambat bila dilakukan secara konvensional. Terutama untuk varietas-varietas unggul yang baru dihasilkan. Banyak metode dalam Teknik kultur *in-vitro*, selain untuk tujuan pokok yaitu juga untuk tujuan pemuliaan tanaman, menghasilkan jenis tanaman baru yang diinginkan, sehingga faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan sel pada metode kultur *in-vitro* diantaranya adalah sumber eksplan, media, hormone, zat pengatur tumbuh (ZPT) dan lingkungan fisik kultur *in-vitro* (Sandra, 2016). Oleh karena itu kultur dengan menggunakan jaringan sel dan organ merupakan metode yang sesuai untuk produksi, karena teknik kultur jaringan dan organ tanaman merupakan metode yang ekonomis dan tidak memerlukan bahan eksplan yang relatif banyak sehingga untuk produksi senyawa alami sangat cocok bila dikembangkan dengan konsep kegiatan di laboratorium (sagharyan, 2020).

2.7. Media Kultur

Media kultur *in-vitro* merupakan salah satu faktor penentu keberhasilan perbanyakan tanaman dengan teknik kultur *in-vitro*. Pada saat ini sudah tersedia berbagai komposisi media kultur telah diformulasikan untuk mengoptimalkan pertumbuhan dan perkembangan tanaman yang dikulturkan. Diantaranya media Murashige and Skoog (1962) media Gamborg, B5 (1968), media Schenk dan Hildebrand, SH (1972), Woody Plant Medium, WPM (Lody dan McCown 1980). Komposisi media untuk setiap jenis tanaman sering kali berbeda-beda. Pada saat mengkulturkan jenis tanaman baru, percobaan-percobaan secara empiris perlu dilakukan untuk mendapatkan komposisi media kultur yang optimal. Akan tetapi media dasar yang paling sering diunakan untuk kultur *in-vitro* tanaman adalah media MS (Murashige and Skoog 1962). Media ini awalnya ditujukan untuk mengkulturkan tanaman tembakau, tetapi pada perkembangannya media ini diakui oleh seluruh dunia cocok untuk kultur *in-vitro* sebagian besar jenis tanaman (Sulistiani, 2012).

Menurut Rosmania (2021) media Murashige and Skoog (MS) merupakan media yang umum digunakan dalam perbanyakan tanaman secara *in-vitro* karena memiliki komposisi unsur hara yang lengkap. Keberhasilan perbanyakan secara *in-vitro* salah satunya dipengaruhi oleh komposisi media yang digunakan. Secara umum komposisi media kultur terdiri dari garam anorganik, garam mineral, zat pengatur tumbuh, bahan pematid, sumber karbon dan supplement organik. Sehingga tingkat keberhasilan dalam teknologi serta penggunaan metode *in-vitro* terutama disebabkan pengetahuan yang lebih baik tentang kebutuhan hara sel dan jaringan yang dikulturkan.

2.8. Zat Pengatur Tumbuh

Zat pengatur tumbuh adalah persenyawaan organik selain dari nutrient yang dalam jumlah sedikit dapat merangsang, menghambat, atau mengubah pola pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Dalam kultur *in-vitro*, dua golongan zat pengatur tumbuh yang sangat penting adalah sitokinin dan auksin. Interaksi dan perimbangan antara zat pengatur tumbuh yang diberikan dalam media dan

yang diproduksi oleh sel secara endogen menentukan arah perkembangan suatu kultur (Gunawan, 1992).

Zat pengatur tumbuh tidak berfungsi sebagai nutrisi tanaman, tetapi berfungsi sebagai pengatur pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Senyawa ini umumnya aktif dalam konsentrasi yang sangat rendah. ZPT umumnya disintesis pada bagian tertentu tanaman, kemudian ditranslokasikan kebagian lain tanaman dimana zat tersebut menimbulkan respon biokimia, fisiologi dan morfologi (Sulistiani, 2012).

Manfaat dari zat pengatur tumbuh sitokinin diantaranya adalah untuk mempercepat pertumbuhan tunas, mempercepat penambahan jumlah daun, memperbanyak anakan dan menghambat penuaan organ tanaman. Jenis-jenis sitokinin antara lain BA/BAP, kinetin, 2-ip, TDZ dan Zeatin. Sedangkan Auksin digunakan untuk merangsang pertumbuhan akar, kalus, suspensi sel dan organ, auksin yang sering dipakai adalah IBA, NAA, 2,4-D dan IAA (Indarto, 2019).

2.9. Pembentukan Kalus

Kalus adalah suatu kumpulan sel yang terbentuk dari sel-sel jaringan yang membelah diri secara terus menerus dan belum mempunyai arah pertumbuhan baik ke tunas atau akar. Salah satu tujuan kultur kalus adalah untuk produksi planlet baru secara besar-besaran. Potensi terbesar penggunaan kultur kalus adalah dimana sel-sel kalus diperbanyak secara terus menerus kemudian dapat dipisahkan dan diinduksi untuk berdiferensiasi menjadi embrio somatik kemudian menjadi planlet. Tujuan lain kultur kalus untuk menghasilkan varian somaklonal dan untuk produksi metabolit sekunder (Sandra, 2016).

Kalus adalah massa sel yang terbentuk dari berbagai rangsangan abiotik dan biotik tetapi *in-vitro*, itu membutuhkan pasokan eksogen auksin dan sitokinin pada rasio tertentu. Secara umum ditetapkan bahwa rasio sitokinin terhadap auksin yang lebih tinggi mendorong pembentukan tunas, rasio auksin terhadap sitokinin yang lebih tinggi mendorong pembentukan akar sementara tingkat keduanya yang tinggi menghasilkan pembentukan kalus (Mahmod, 2020). Bahkan perkembangan penelitian kalus digunakan sebagai bahan untuk memproduksi metabolit sekunder pada tanaman. Negara-negara maju banyak yang telah

menggunakan metode kultur *in-vitro* melalui pembentukan kalus untuk menghasilkan metabolit sekunder seperti Flavanoid, fenolik dan antioksidan yang akan digunakan dalam dunia industri kosmetik dan obat-obatan (Habibah, 2021).

Pembentukan kalus telah menarik banyak perhatian baik untuk skala keperluan penelitian ataupun industri, baik untuk perbanyakan maupun memproduksi metabolit sekunder. Dengan pemilihan zat pengatur tumbuh yang sesuai maka tujuan untuk perbanyakan tanaman ataupun mendapatkan produksi metabolit sekunder akan tercapai sesuai dengan yang hasil yang diharapkan (Sagharyan, 2020). Konsentrasi dalam pembentukan kalus menurut Edi shandra dalam bukunya Rahasia Membuat Variagata (2020) menuliskan bahwa gabungan antara auksin dan sitokinin dalam kekuatan yang sama dalam konsentrasi tinggi, contohnya IBA 2 mg.l⁻¹+ BAP 2 mg.l⁻¹ atau 2,4-D 2 mg.l⁻¹ + Kinetin 2 mg.l⁻¹ dapat merangsang pertumbuhan kalus. Cara lain adalah dengan sinergisitas hormon sitokinin dalam konsentrasi tinggi seperti BAP 4 mg.l⁻¹ + TDZ 2 mg.l⁻¹ atau kinetin 4 mg.l⁻¹ + 2 ip 2 mg.l⁻¹.

Dalam penelitian setiawati (2019) menyatakan bahwa sebagian besar kalus yang terbentuk dari eksplan batang krisan memiliki tekstur kompak dan pada beberapa perlakuan bertekstur kombinasi kompak dan remah. Kalus asal eskplan daun krisan memiliki tekstur kalus yang bervariasi, namun secara umum bertekstur kompak. Pembentukan kalus yang diinduksi dari eskplan batang dan daun planlet krisan terjadi pada seluruh perlakuan kombinasi 2,4-D + kinetin dan NAA + BAP. Sebagian besar kalus yang terbentuk memiliki tekstur kompak dengan warna kehijauan. Ukuran kalus, berat basah dan berat kalus tertinggi yang diinduksi dari eksplan batang dan daun krisan berturut-turut terdapat pada kombinasi 3 ml.l⁻¹ 2,4-D + 2 ml.l⁻¹ kinetin dan 1 ml.l⁻¹ NAA + 1 ml.l⁻¹BAP.

Menurut Puspitasari (2021) dalam penelitian kalus gembili Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi antara 1 ml.l⁻¹ 2,4-D + 1 ml.l⁻¹ kinetin menghasilkan berat basah yang paling tinggi yaitu sebesar 2,1782 gram. Sel yang dihasilkan dominan berbentuk globular, namun ada beberapa yang berdiferensiasi menjadi memanjang, warna sel bervariasi dari cokelat muda hingga cokelat tua. Hasil penelitian Isnaini (2020) bahwasanya media MS dengan penambahan 2 mg.l⁻¹BAP dan 0,5 mg.l⁻¹ NAA merupakan media yang paling baik bagi eksplan

tangkai daun dalam pembentukan kalus, tunas dan akar yang ditandai dengan jumlah masing-masing adalah 75%, 50% dan 56,67%. Selanjutnya, eksplan berupa kalus lebih mudah memberikan respon membentuk tunas dan akar dibandingkan dengan tangkai daun, baik pada kondisi ruang penyimpanan gelap maupun terang.

Hasil penelitian Rismayanti (2021) pada daun kopi arabika menunjukkan bahwa perlakuan F (Air Kelapa 20% + 2,4-D 0,5 mg.l⁻¹) menghasilkan waktu inisiasi kalus lebih cepat. Berbanding dengan hasil penelitian dari Mahmud (2020) untuk kultur kalus dioscera yang telah dilakukan bahwasanya induksi kalus dari ruas batang untuk mengevaluasi potensi kultur kalus *Dioscorea hispida* **Dennst.** Hasil menunjukkan bahwa kombinasi 1 mg.l⁻¹ asam naftalen aasetat (NAA), 1 mg.l⁻¹ 6-benzylaminopurine (BAP) dan 0,5 mg.l⁻¹ Asam 2,4-diklorofenoksiasetat (2,4-D) dalam media Gamborg (B5) meningkatkan multiplikasi dan diferensiasi kalus dalam kultur batang dibandingkan dengan media Murashige dan Skoog (MS).