II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Sarang Semut

Tanaman sarang semut (*Myrmecodia pendans)* diklasifikasikan dalam Kingdom Plantae, Phylum Magnoliophyta, Class Magnoliopsida, Ordo Rubiales, Family Rubiaceae, Genus Myrmecodia, Spesies pendans (Subroto dan Hendro, 2006). Sarang semut tumbuh secara epifit, menempel di pohon besar dengan ketinggian pohon sekitar 8 meter sebagai inangnya, habitat sarang semut sendiri yaitu di daerah pesisir, hutan bakau, dataran rendah savana, hutan hujan tropis, hutan pegunungan rendah yang belum terganggu dan hutan pegunungan atas. Jenis semut yang menghuni tanaman ini seperti *I.cordatus, Crematogaster sp, Iridomyrmex cordatus* dan *Pheidole megacephala* (Huxley, 1977). Pohon yang sering dijadikan pohon inang : pohon kayu putih (*Melaleucea*), pohon bakau (*Rhizopora racemosa*), pohon cemara gunung (*Casuarina*), pohon kaha (*Castanopis*) dan pohon beech (*Nothofagus*). Kelompok marga *Myrmecodia* dan *Hydnophytum* tersebar di Malaysia, Indonesia, Filipina, Thailand, dan Kamboja serta benua Australia (Plummer, 2000).

Sampai saat ini, hanya 2 kelompok marga tanaman sarang semut, yakni Hydnophytum dan Myrmecodia yang telah terbukti berkhasiat sebagai obat. Marga Hydnophytum terdiri dari 45 spesies, antara lain : *Hydnophytum formicarum dan Hydnophytum moseleyanum*. Marga *Myrmecodia* memiliki sekitar 26 spesies, antara lain : *Mymecodia tuberosa, Myrmecodia pendans, Myrmecodia oblongata, Myrmecodia brasii, Myrmecodia archboldiana* dan lain-lain (Lok and Tan, 2009).

Sarang semut hanya memiliki satu batang yang jarang bercabang, ruas yang tebal dan pendek serta daun tebal pada ujung tanaman. Batang bagian bawahnya secara progresif menggelembung membentuk umbi atau hipokotil. Tanaman sarang semut berbunga pada saat terbentuk ruas (internodal) pada batangnya. Sarang semut melakukan penyerbukan sendiri dengan bunga berwana putih dan buah matang berwarna merah atau jingga. Sarang semut termasuk tanaman sukulen yang dapat menyimpan air dalam jaringannya sehingga toleran terhadap kekeringan (Huxley, 1977).

Sarang semut memiliki umbi yang rata-rata berdiameter 25 cm dan tinggi 45 cm dengan permukaan bertekstur dan memiliki duri-duri pada kulitnya untuk melindunginya dari herbivora. Di dalam umbi sarang semut terdapat labirin yang dihuni oleh semut dan cendawan. Keunikan tanaman ini terletak pada koloni semut yang bersarang pada umbi sehingga terbentuk labirin di dalamnya, Kestabilan suhu yang ada di dalam umbi membuat semut bisa hidup dan membuat sarang di dalamnya. Dalam jangka waktu yang lama terjadi reaksi kimia antara senyawa yang dikeluarkan semut dengan zat terkandung dalam tanaman sehingga sarang semut bermanfaat mengatasi berbagai penyakit. (Huxley, 1977: Hertiani *et al.*, 2010).

Perbanyakan sarang semut menggunakan biji, namun perbanyakan menggunakan biji mengalami kendala yaitu ketika buah sarang semut jatuh, semut jenis *Iridomyrmex cordatus* (Huxley, 1977) akan membawa biji dari buah sarang semut ke dalam rongga-rongga sarang semut untuk dimakan, sehingga hanya biji yang selamat yang bisa tumbuh. Populasi tanaman sarang semut semakin

berkurang karena setiap tahun terjadi peningkatan alih fungsi lahan dari hutan menjadi perkebunan dan perumahan. Konservasi sarang semut dapat dilakukan salah satunya dengan memperbanyak tanaman secara *in vitro*

B. Kultur *In Vitro*

Kultur *in vitro* merupakan suatu teknik pengisolasian bagian tanaman seperti organ, jaringan, sel, protoplasma menumbuhkannya secara aseptis dalam medium buatan yang kaya akan nutrisi dan mengandung zat pengatur tumbuh sehingga bagian-bagian tersebut memperbanyak diri dan akhirnya beregenerasi menjadi tanaman lengkap kembali. Pada mulanya orientasi teknik kultur jaringan menjadi sarana pembuktian sifat totipotensi sel (Hermawan, 1996). Satu sel dapat tumbuh sendiri walaupun terpisah dengan tanaman induknya karena sel mempunyai kemampuan untuk berkembang. Menurut sifat totipotensi sel dengan pengambilan bagian manapun dari tanaman akan tumbuh menjadi individu baru yang lengkap apabila diletakkan di medium yang sesuai (Katuuk, 1989).

Keberhasilan kultur *in vitro* ditentukan oleh beberapa faktor yaitu, asal eksplan seperti bagian; tunas, biji, daun, akar atau bunga, umur tanaman (umumnya tanaman yang telah mencapai fase generatif lambat pertumbuhannya dibandingkan tanaman muda), genotipe tanaman, media kultur yang mencangkup pemberian unsur hara yang lengkap dan tepat sesuai dengan eksplan. Ketepatan dalam pemberian takaran unsur hara karena pertumbuhan eksplan sangat bergantung pada susunan zat makanan yang terlarut dalam medium (Katuuk, 1989).

Medium tumbuh yang dipakai tergantung pada jenis asal mula eksplan diambil sesuai dengan bahan, tujuan, umur jaringan (Widiastoeti dan Santi, 1997). Dalam perbanyakan kultur *in vitro*, pertumbuhan eksplan sangat dipengaruhi oleh medium tanam. Medium tanam berisi berbagai macam zat hara seperti: unsur makro, unsur mikro, vitamin, dan zat pengatur tumbuh. Pembuatan medium dibuat menjadi padat dengan menambahkan agar yang berguna untuk mencegah eksplan berpindah tempat.

Medium *Vacin and Went* dan Knudson C sering digunakan dalam kultur *in vitro* anggrek (Gunawan, 1995). Medium tanam tersebut dapat diganti dengan bahan lain seperti pupuk daun. Penelitian Agnestasia (2010) mengemukakan bahwa pemberian ekstrak ubi jalar pada konsentrasi 150 g/l efektif mempercepat saat muncul akar baik pada anggrek *D. alice noda* x *D. tomie* maupun anggrek *Ph.* '*pinlong*' *Cinderella* x *V. tricolor pandurata* hasil kultur *in vitro*. Hasil penelitian tentang penggunaan medium VW, MS dan NDM pada tanaman sarang semut menunjukkan bahwa eksplan daun sarang semut tumbuh akar pada medium VW yang merupakan medium paling sederhana kandungan unsur haranya jika dibanding medium lainnya (Sukarjan *et al.*, 2012).

Multiplikasi bertujuan untuk menggandakan bahan tanam yang diperbanyak melalui tunas atau embrio, serta memeliharanya dalam keadaan tertentu sehingga sewaktu-waktu bisa dilanjutkan untuk tahap berikutnya. Pada tahap ini, perbanyakan dapat dilakukan dengan cara merangsang terjadinya pertumbuhan tunas cabang dan percabangan aksiler atau merangsang terbentuknya tunas pucuk tanaman secara adventif, baik secara langsung maupun melalui induksi kalus

terlebih dahulu. Seperti halnya dalam kultur fase inisiasi, di dalam medium harus terkandung mineral, gula, vitamin dan zat pengatur tumbuh dengan perbandingan yang dibutuhkan secara tepat. Zat pengatur tumbuh yang digunakan untuk merangsang pembentukan tunas tersebut berasal dari golongan sitokinin seperti BAP, 2-iP (*dimethyl allyl amino purin*), kinetin, atau thidiazuron (TDZ) (Rinaldi, 2011). Multiplikasi tunas biji tanaman sarang semut untuk perbanyakan secara *in vitro* di Indonesia sendiri masih belum dikembangkan, sedangkan populasi tanaman ini sendiri lama kelamaan mulai berkurang ditambah perbanyakan tanaman ini hanya secara generatif sehingga didapat satu biji, satu tunas dan diperlukan waktu lama tanaman ini untuk tumbuh, melihat kondisi ini perbanyakan secara *in vito* diharapkan mendapatkan multiplikasi tunas biji tanaman sarang semut dengan penambahan zat pengatur tumbuh.

C. Zat Pengatur Tumbuh

Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) adalah senyawa organik bukan nutrisi yang dalam konsentrasi rendah (< 1 mM) dapat mendorong, menghambat atau secara kualitatif mengubah pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Intan, 2008). ZPT yang sering digunakan dalam kultur *in vitro* adalah dari golongan auksin dan sitokinin.

Auksin digunakan secara luas dalam kultur jaringan untuk merangsang pembentukan kalus, merangsang pemanjangan sel, suspensi sel dan organ. Pemilihan jenis auksin dan konsentrasinya tergantung atas tipe pertumbuhan yang dikehendaki, kandungan auksin endogen, dan kemampuan jaringan mensintesis

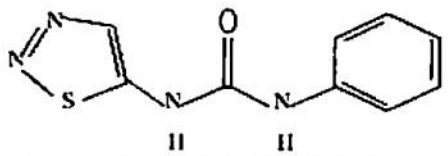
auksin. Auksin yang secara alami terdapat dalam tumbuhan adalah *Indole-3-Acetic Acid* (IAA). Bentuk-bentuk auksin eksogen yang biasa ditambahkan ke dalam media kultur adalah 2,4-D, IBA, NAA, dan IAA.

Zat pengatur tumbuh NAA merupakan ZPT yang sering digunakan dalam kultur jaringan. Jika penggunaan konsentrasi NAA lebih tinggi dibandingkan konsentrasi sitokinin, maka dapat mempercepat inisiasi akar. Auksin dalam konsentrasi rendah akan memacu akar adventif sedangkan konsentrasi tinggi mendorong terbentuknya kalus (Wattimena, 1992)

NAA memiliki sifat kimia lebih stabil dibanding IAA dan tidak mudah teroksidasi oleh enzim dan NAA merupakan auksin sintetik yang sering digunakan karena memiliki sifat yang lebih tahan, tidak terdegradasi dan lebih murah. *Naphthalene Acetic Acid / Naphtyl Acetic Acid* (NAA) memiliki bobot molekul 186,21 dengan rumus molekul $C_{12}H_{10}O_2$. Septiari (2003) mengungkapkan pemberian konsentrasi NAA 0,5 mg/l adalah konsentrasi terbaik untuk merangsang multiplikasi tunas dan menghasilkan 7,3 tunas pada tanaman bawang merah. Menurut Raharjo (2004) pada perlakuan NAA 1 mg/l menghasilkan rata-rata jumlah akar dan panjang akar terbesar masing-masing 2,3 buah akar dan 12,78 mm pada tanaman *Azadirachta* (Jack) M. Jacobs.

Sitokinin merupakan ZPT yang banyak digunakan untuk memacu inisiasi dan proliferasi tunas. Aktivitas yang terutama ialah mendorong pembelahan sel, menginduksi tunas adventif dan dalam konsentrasi tinggi menghambat inisiasi akar. Diantara beberapa jenis sitokinin, sitokinin tipe urea memiliki aktivitas lebih kuat dibanding tipe purin atau adenin (Huetteman dan Preece, 1993). Nphenyl- N'-

1,2,3,-thidiazol-5-ylurea atau Thidiazuron (Gambar 1) merupakan sitokinin sintesis turunan dari phenylurea. TDZ mempunyai berat molekul 220,25 dengan rumus molekul $C_9H_8N_4OS$ (Gunawan, 1995).



Gambar 1. Struktur Molekul Thidiazuron

Penelitian Winarto *et al*, (2009) pada perlakuan 0,5 mg/l 2,4-D yang dikombinasikan dengan 1,0 mg/l TDZ merupakan kombinasi terbaik untuk meregenerasi kalus menjadi tunas dan menghasilkan 5,3 tunas per eksplan pada tanaman *Anthurium*. Pada tanaman daun encok memberikan jumlah tunas terbanyak yaitu 7,2 dan laju pertumbuhan paling cepat pada perlakuan BA 1 mg/l + Thidiazuron (Yelnititis, 1996). Menurut Rosmaina (2007) rataan jumlah tunas tertinggi (13,25 tunas/eksplan) diperoleh pada perlakuan 0,1 mM TDZ + 2,0 mM NAA pada eksplan nenas. Sementara pemberian thidiazuron sebanyak, 0,3 ppm pada media MS menghasilkan multiplikasi tunas melinjo yang lebih besar, baik multiplikasi tunas pada eksplan yang berasal dari lapang maupun eksplan *in vitro* (Yunita, 2004).