

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Sarang Semut

Myrmecodia pendens Merr. & L.M.Perry adalah nama latin untuk sarang semut. Spesies *Myrmecodia* ada 71 spesies namun yang berkhasiat adalah jenis *Myrmecodia pendens* Merr. & L.M.Perry dengan ukuran rata-rata berdiameter 25 cm dan tinggi 45 cm. Sarang semut tumbuh pada pohon inang setinggi 8 m berada di ketinggian 1100-2500 m dari permukaan laut, dan sudah dikenal oleh masyarakat lokal Asia Tenggara. Adapun klasifikasi ilmiah dari tanaman sarang semut adalah sebagai berikut : Kingdom Plantae, Divisi *Magnoliophyta*, Kelas *Magnoliopsida*, Ordo *Rubiales*, Family *Rubiaceae*, Genus *Myrmecodia*, Spesies *Myrmecodia pendens* Merr. & L.M.Perry.

Keunikan sarang semut terletak pada interaksi semut yang bersarang pada umbi yang terdapat lorong-lorong di dalamnya. Kestabilan suhu di dalamnya membuat koloni semut betah berlama-lama bersarang di dalam tanaman ini. Dalam jangka waktu yang lama terjadilah reaksi kimia secara alami antara senyawa yang dikeluarkan semut dengan zat yang terkandung di dalam buah sarang semut. Akar sarang semut tidak berfungsi sebagai penyerap unsur hara, hanya sebagai pengikat terhadap pohon inangnya. Benalu berbentuk bonggol inilah yang dimanfaatkan untuk diolah menjadi obat. Efek samping yang negatif dari sarang semut tidak ditemukan, sebaliknya dapat memperbaiki metabolisme tubuh, melancarkan peredaran darah sehingga stamina meningkat (Hertiani *et al.*, 2010).

Uji penapisan kimia dari tumbuhan sarang semut menunjukkan bahwa tumbuhan ini mengandung senyawa-senyawa kimia dari golongan flavonoid dan tanin. Dalam banyak kasus, flavonoid dapat berperan secara langsung sebagai antibiotik dengan mengganggu fungsi dari mikroorganisme seperti bakteri atau virus. Fungsi flavonoid sebagai antivirus telah banyak dipublikasikan, termasuk untuk virus HIV (AIDS) dan virus Herpes. Selain itu, flavonoid juga dilaporkan berperan dalam pencegahan dan pengobatan beberapa penyakit lain seperti asma, katarak, diabetes, encok/rematik, migrain, wasir, dan periodontitis (radang jaringan ikat penyangga akar gigi). Penelitian-penelitian mutakhir telah mengungkap fungsi-fungsi lain dari flavonoid, tidak saja untuk pencegahan, tetapi juga untuk pengobatan kanker (Soeksmanto *dkk.*, 2010 *dalam* Sukarjan *dkk.*, 2012)

Perbanyakan sarang semut masih mengandalkan cara alami dari tanaman, yaitu melalui biji yang dibiarkan tumbuh di habitatnya. Upaya perbanyakan secara vegetatif untuk mendapatkan tanaman dalam jumlah banyak belum dilakukan. Kultur *in vitro* dapat digunakan sebagai alternatif perbanyakan vegetatif tanaman ini.

B. Kultur *In Vitro*

Kultur *in vitro* bila diartikan ke dalam bahasa Jerman disebut *Gewebe kultur* atau tissue culture (Inggris) atau *weefsel kweek* atau *weefsel cultuur* (Belanda). Kultur *in vitro* adalah suatu metode untuk mengisolasi bagian dari tanaman seperti protoplasma, sel, jaringan atau organ yang steril, ditumbuhkan pada medium buatan yang steril, dalam botol kultur yang steril dan dalam kondisi yang aseptik,

sehingga bagian-bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman yang lengkap (Mulyaningsih dan Nikmatullah, 2006 dalam Anggriani, 2011).

Kultur *in vitro* didasarkan konsep totipotensi sel, yakni secara teoritis setiap sel organ tanaman atau mampu tumbuh menjadi tanaman yang sempurna jika ditempatkan dalam lingkungan yang sesuai. Mekanisme kultur *in vitro* melalui pemisahan sebagian kecil organ tanaman yang dibiakkan di medium kultur yang mengandung nutrisi, baik mikro maupun makro, senyawa organik yang meliputi vitamin, gula, dan sejenisnya, zat pengatur tumbuh tanaman, serta kondisi lingkungan yang sesuai. Perbanyakan tanaman melalui kultur *in vitro* dapat dilakukan dengan menggunakan kultur kalus, organ, sel, atau protoplasma. Teknologi perbanyakan mikro pada dasarnya dapat digolongkan dalam perbanyakan tunas aksilar, tunas adventif, dan embriogenesis somatik. Meskipun demikian, dalam praktiknya, masih dijumpai kesalahpahaman tentang pengertian perbanyakan mikro dalam kaitannya dengan peningkatan produktivitas.

Kultur *in vitro* bukan metode pemuliaan tanaman, tetapi hanya merupakan cara perbanyakan genotipe yang ada. Terdapat keuntungan yang diperoleh dari menggunakan kultur jaringan, yaitu bibit yang dihasilkan seragam dalam hal kualitas, ukuran, dan usia, sehingga akan memudahkan penanaman dan pemanenan, menjaga kontinuitas ketersediaan bibit dalam jumlah besar; menghasilkan bibit bebas dari penyakit. Hal ini dapat memberikan keuntungan besar dalam hal produktivitas yang tinggi, terutama jika ditunjang cara-cara budidaya yang optimal. Sedangkan kelemahan dari *in vitro* yaitu bibit hasil kultur

jaringan sangat rentan terhadap hama penyakit dan udara luar (Tini dan Amri, 2002 dalam Anggriani, 2011).

Sukarjan *dkk.*, (2012) melakukan induksi tunas yang berasal dari eksplan daun dan bonggol tanaman sarang semut. Hasil pengujian pendahuluan menunjukkan bahwa eksplan terbaik adalah daun yang ditanam pada medium VW tanpa dekstrak kurma dengan persentase kontaminasi 50%, sedangkan eksplan bonggol mengalami tingkat kontaminasi mencapai 100 %. Pengujian penggunaan jenis medium dengan berbagai konsentrasi dilakukan dengan menggunakan tiga jenis medium yaitu medium Vacin and Went (VW), medium Murashige and Skoog (MS) dan New Dogashima Medium (NDM). Pada penelitian ini akar dapat tumbuh dari eksplan daun yang ditumbuhkan pada medium VW, karena merupakan medium paling sederhana kandungan unsur haranya jika dibanding medium yang lain.

Sementara Supriyadi (2014) menginduksi tunas sarang semut dengan medium VW dengan perlakuan kombinasi antara Thidiazuron (0, mg/l, 0,5, mg/l, 1 mg/l) dan NAA (0, mg/l, 0,1 mg/l). Berdasarkan perlakuan tersebut, diketahui bahwa respon terbaik pada induksi tunas ditunjukkan oleh perlakuan thidiazuron 1 mg/l yang dikombinasikan dengan NAA 0,1mg/l, namun tidak semua biji menghasilkan tunas lebih dari 1.

C. Medium MS

Medium merupakan faktor utama dalam perbanyakan dengan kultur *in vitro*. Keberhasilan perbanyakan dan perkembangbiakan tanaman dengan metode kultur jaringan secara umum sangat tergantung pada jenis medium. Medium tumbuh

pada kultur *in vitro* sangat besar pengaruhnya terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksplan serta bibit yang dihasilkannya. Oleh karena itu, macam - macam medium kultur *in vitro* telah ditemukan sehingga jumlahnya cukup banyak. Nama-nama medium tumbuh untuk eksplan ini biasanya sesuai dengan nama penemunya. Medium tumbuh untuk eksplan berisi kualitatif komponen bahan kimia yang hampir sama, hanya agak berbeda dalam besarnya kadar untuk tiap-tiap persenyawaan. Medium dasar yang sering digunakan dalam kultur *in vitro* sendiri adalah medium MS dan modifikasinya (Chen *et al.*, 2004)

Medium Murashige & Skoog (MS) paling banyak digunakan untuk beberapa tujuan kultur. Medium MS merupakan perbaikan komposisi medium Skoog, terutama kebutuhan garam anorganik yang mendukung pertumbuhan optimum pada kultur jaringan tembakau. Medium MS mengandung 40 mM N dalam bentuk NO_3 dan 29 mM N dalam bentuk NH_4^+ . Kandungan N ini, 15 kali lebih tinggi dari medium tembakau Hildebrant, dan 19 kali lebih tinggi dari medium White. Kalium juga ditingkatkan sampai 20 mM, sedangkan P 1,25 mM. Unsur makro lainnya konsentrasinya dinaikkan sedikit. Pertama kali unsur-unsur makro dalam medium MS dibuat untuk kultur kalus tembakau, tetapi komposisi MS ini sudah umum digunakan untuk kultur jaringan jenis tanaman lain. Medium MS paling banyak digunakan untuk berbagai tujuan kultur pada tahun-tahun sesudah penemuan medium MS. Senyawa-senyawa di dalam medium MS dapat terjadi pengendapan persenyawaan, ini terlihat jelas pada medium cair. Kebanyakan dari persenyawaan yang mengendap adalah fosfat dan besi, kemudian dalam jumlah yang lebih sedikit adalah Ca, K, N, Zn dan Mn. Senyawa paling sedikit adalah

senyawa yang mengandung unsur C, Mg, H, Si, Mo, S, Ca dan Co. Setelah tujuh hari dibiarkan, maka kira-kira 50% dari Fe dan 13% dari PO_4^+ , mengendap. Pengendapan unsur-unsur tersebut mungkin tidak penting, karena unsur-unsur tersebut masih tersedia bagi jaringan tanaman dan pengaruh pengendapannya belum diketahui. Untuk mengatasi pengendapan Fe, konsentrasi Fe dikurangi sampai 1/3 dengan EDTA yang tetap (Tini dan Amri, 2002 *dalam* Anggriani, 2011).

Komposisi medium yang digunakan dalam kultur *in vitro* dapat berbeda komposisinya. Perbedaan komposisi medium dapat mengakibatkan perbedaan pertumbuhan dan perkembangan eksplan yang ditumbuhkan secara *in vitro*. Medium Murashige dan Skoog (MS) sering digunakan karena cukup memenuhi unsur hara makro, mikro dan vitamin untuk pertumbuhan tanaman (Marlina, 2004).

Nutrien yang tersedia di medium berguna untuk metabolisme, dan vitamin pada medium dibutuhkan oleh organisme dalam jumlah sedikit untuk regulasi. Pada medium MS, tidak terdapat zat pengatur tumbuh (ZPT) oleh karena itu ZPT ditambahkan pada medium (eksogen). ZPT atau hormon tumbuhan berpengaruh pada pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Interaksi dan keseimbangan antara ZPT yang diberikan dalam medium (eksogen) dan yang diproduksi oleh sel secara endogen menentukan arah perkembangan suatu kultur (Soomro, *et al.*, 2003).

D. Zat Pengatur Tumbuh

Zat pengatur tumbuh alami adalah senyawa organik kompleks alami yang disintesis oleh tanaman yang berpengaruh pada pertumbuhan dan perkembangan tanaman. ZPT yang sering digunakan pada kultur jaringan yaitu auksin dan sitokinin. Jika konsentrasi auksin lebih besar daripada sitokinin maka akar akan tumbuh, dan bila konsentrasi sitokinin lebih besar daripada auksin maka tunas akan tumbuh. Interaksi dan perimbangan antara zat pengatur tumbuh yang diberikan dalam medium dan yang diproduksi oleh sel secara endogen, menentukan arah perkembangan suatu kultur (Gunawan, 1995 *dalam* Nisak *dkk.*, 2012).

Auksin merupakan salah satu golongan fitihormon, baik yang alamiah maupun yang sintetik, menginduksi pemanjangan sel dan juga dalam kasus tertentu pembelahan sel. Golongan persenyawaan ini juga mempengaruhi dominansi apikal, penghambatan pucuk aksilar dan adventif, serta inisiasi pengakaran (Wattimena, 1992). Salah satu jenis auksin sintetik yang sering digunakan adalah NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) karena NAA mempunyai sifat lebih stabil dari pada IAA (Fitrianti, 2006).

Nisak *dkk.*,(2012) menginduksi tunas dan akar tembakau dengan perlakuan NAA (0, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5) mg/l dan BAP (0, 1, 2, 3, 4) mg/l. Berdasarkan hasil analisis menunjukkan bahwa penambahan kombinasi zat pengatur tumbuh NAA dan BAP berpengaruh terhadap jumlah tunas dan akar. Proliferasi tunas tertinggi diperoleh pada perlakuan NAA 1 ppm dan BAP 4 ppm (rata- rata 52,5

tunas/eksplan), sedangkan proliferasi akar tertinggi diperoleh pada perlakuan NAA 0,3 ppm dan BAP 0 ppm (rata-rata 6,5 akar/eksplan).

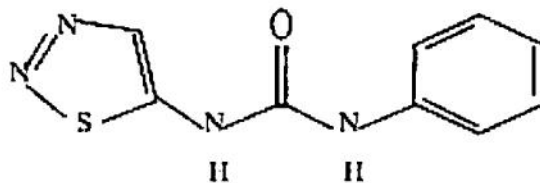
Khasanah (2009) menginduksi tunas pisang dengan menggunakan NAA dan kinetin dan hasilnya Konsentrasi NAA berpengaruh terhadap multiplikasi tunas pisang (*Musa paradisiaca* L.cv. Raja Bulu) secara *in vitro*, penambahan NAA 1 ppm memberikan respon terbaik untuk multiplikasi tunas baru.

Budi (2014) menginduksi tunas angrek *Dendrobium sp* dan hasilnya Perlakuan 0,5 NAA memberikan hasil terbaik terhadap panjang akar dan pada berat basah. Kombinasi perlakuan 0,5 NAA dan 0,5 Thidiazuron (N1T1) dapat meningkatkan jumlah tunas sehingga memberikan jumlah tunas terbanyak dibandingkan perlakuan lain.

Sitokinin yang pertama ditemukan yaitu kinetin, suatu hormon yang ditemukan dalam batang tembakau. Zat ini menggiatkan pembelahan sel (*cytokinesis*). Sitokinin merupakan zat pengatur tumbuh pada tumbuhan yang dapat menstimulasi pembelahan dan diferensiasi sel tumbuhan. Secara alami sitokinin merupakan derivat dari adenine dan dapat dikelompokkan menjadi dua tipe, yaitu tipe adenine dan tipe phenylurea. Sitokinin tipe adenine memiliki ciri-ciri adenine sebagai bagian utama sedangkan tipe phenylurea memiliki struktur phenylurea sebagai utama. Thidiazuron (TDZ) merupakan salah satu sitokinin tipe phenylurea sintetik yang memiliki kemampuan lebih baik dalam menginduksi tunas, dibandingkan sitokinin lain seperti zeatin, benziylaminopurin dan kinetin (Kou *et al.*, 2005 dalam Kusmianto, 2008). Hasil penelitian Chen *et al.*, (2004) menunjukkan bahwa eksplan potongan daun *Phalaenopsis philippinense* PH59

dapat menghasilkan jumlah tunas optimal pada perlakuan 4,54 μM (1 mg/l) Thidiazuron.

Penggunaan Thidiazuron dan dan BAP yang melebihi konsentrasi optimum dalam jumlah tunas yang dihasilkan dapat menurunkan jumlah tunas yang terinduksi. Jumlah tunas yang lebih banyak dapat diusahakan melalui penelitian yang menguji pengaruh kombinasi antara kedua sitokinin tersebut atau dengan auksin (Youbi *et al.*, 2006 dalam Kusmianto, 2008).



Gambar 1. Struktur Molekul Thidiazuron ($\text{C}_9\text{H}_8\text{N}_4\text{OS}$)

Konsentrasi auksin yang lebih tinggi dari sitokinin akan memicu pertumbuhan perakaran, konsentrasi sitokinin yang lebih tinggi dari auksin akan memicu pertumbuhan tunas, sedangkan konsentrasi sitokinin yang berimbang dengan auksin dalam kultur *in vitro* dapat memicu eksplan untuk membentuk kalus. Oleh karena itu untuk menginduksi pertunasan dibutuhkan sitokinin, tetapi jika sitokinin digunakan melebihi 10 ppm dapat menyebabkan penurunan jumlah tunas yang terbentuk (Rajasekaran *dkk.*, 1987 dalam Kusmianto, 2008)

E. Hipotesis

1. Diduga penggunaan eksplan daun memberikan hasil terbaik untuk multiplikasi tunas sarang semut.

2. Diduga penggunaan 3 mg/l Thidiazuron memberikan hasil terbaik untuk multiplikasi tunas sarang semut.
3. Diduga penggunaan eksplan daun dengan penambahan 3 mg/l Thidiazuron memberikan respon terbaik terhadap multiplikasi tanaman sarang semut.