

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Tin (*Ficus carica* L.)

Tanaman tin merupakan tanaman khas Timur Tengah yang saat ini tengah dibudidayakan di Indonesia. Meskipun tergolong masih langka, tanaman ini telah dikenal sebagai tanaman yang mempunyai khasiat sebagai anti diabetes (Rijal, 2008).

Klasifikasi tanaman tin adalah; Kingdom: Plantae, Divisi: Magnoliophyta, Kelas: Magnoliopsida, Ordo: Rosales, Family: Moraceae, Bangsa: Ficeae, Genus: *Ficus*, Subgenus: *Ficus*, Spesies: *Ficus carica* (Wikipedia Indonesia, 2011).

Tanaman tin dapat tumbuh di berbagai tempat dengan temperatur sampai -7°C , akan tetapi suhu rata-rata tahunan yang ideal agar tanaman ini dapat menghasilkan panen tahunan adalah sekitar 18°C . Inilah yang terjadi di daerah beriklim sedang. Di daerah dingin tin harus ditanam di tempat terlindung menghadap matahari. Di daerah tropis tin dapat dipanen tiga kali setahun dan dua kali di daerah subtropis (<http://www.botanical-online.com>, 2011).

Di daerah tropis tin dapat tumbuh pada ketinggian 800-1800 m di atas permukaan laut. Tin juga dapat tumbuh pada berbagai jenis tanah, diantaranya pasir ringan, lempung, tanah liat atau kapur, asalkan masih tersedia hara dan drainase. Tanaman ini cukup toleran terhadap salinitas, tetapi tidak cocok pada tanah asam, pH tanah yang optimal berkisar antara 6,0 – 6,5. Tanaman tin biasanya diperbanyak dengan stek dari kayu dewasa yang berumur 2 sampai 3 tahun, dengan diameter 1,25-2 cm dan panjang 20-30 cm. Stek tin dipelihara di pembibitan kemudian dipindahkan ke lapangan setelah berumur 12 atau 15 bulan

dengan tinggi 1,8 - 7,5 m tergantung pada kultivar dan kesuburan tanah. Jarak tanam yang memungkinkan adalah 4 x 4 m sehingga terdapat 625 pohon / ha. Di Kolombia, petani disarankan untuk mengatur jarak tanam pohon tin dengan jarak 3 x 3 m pada lahan datar, dan 3x 4 m di lereng. Tin mulai berbuah kurang dari satu tahun dari umur tanam. Tanaman muda membutuhkan naungan sampai terdapat jumlah daun yang banyak. Formula pupuk yang dianjurkan yaitu pupuk NPK 10-30-10 atau 10-20-20 dengan dosis 60 g untuk tanaman muda dan 100 g untuk tanaman dewasa, ditambah unsur mikro sebanyak 30 g per pohon setiap 6 bulan (Morton, 1987).

Buah tin memiliki kandungan nutrisi yang tinggi, memiliki kandungan serat dan juga mineral yang lebih tinggi dibandingkan dengan buah apel dan jeruk (tabel 1).

Tabel 1. Perbandingan Nutrisi Buah Tin dengan Apel dan Jeruk

	Berat	Total Serat- g	Energi (Kkal)	Kalsium (Ca)-mg	Besi (Fe)-mg	Potassium (K)-mg	Magnesium (Mg)-mg
Tin Kering	$\frac{3}{4}$ cangkir (111.75 g)	10.95	278.25	180.75	2.26	759.75	75.75
Apel Segar	$1 \frac{1}{2}$ cangkir (140g)	3.33	73.20	8.99	0.17	150.27	6.42
Jeruk Florida	Ukuran sedang (141 g)	3.4	65	61	0.13	238	14

Sumber: *USDA National Nutrition Database for Standard Reference (2010)*

Tin memiliki makna penting dalam konteks simbolik, religius, ekologis, nutrisi dan komersial. Daun tin sering dipakai sebagai simbol *modesty*

(kesederhanaan, kerendahan hati, kesopanan) yang mengiringi perjalanan wahyu Illahi dalam 3 kenabian hamba Allah. Menurut riwayat lainnya, Adam dan Hawa menutupi auratnya dengan daun-daun tin setelah kejatuhannya. Pohon tin keramat (*The Sacred Fig*), *Ficus religiosa*, dianggap keramat oleh para pengikut Hinduisme, Jainisme dan Buddhis. Menurut legenda, Siddharta Gautama duduk di bawah Pohon Bo (*Bo Tree*) ketika ia mengalami pencerahan. Tumbuhan ini tercantum dalam 3 kitab yakni Al Qur'an, Taurat dan Injil (Haris, 2010).

B. Kultur *In vitro*

Kultur *in vitro* adalah suatu teknik untuk mengisolasi sel, protoplasma, jaringan, dan organ dan menumbuhkan bagian tersebut pada nutrisi yang mengandung zat pengatur tumbuh tanaman pada kondisi aseptik, sehingga bagian-bagian tersebut dapat memperbanyak diri menjadi tanaman sempurna. Disebut sebagai kultur *in vitro* (bahasa Latin, berarti "di dalam kaca") karena jaringan dibiakkan di dalam tabung kaca, botol kaca, cawan petri dari kaca, atau material tembus pandang lainnya (Pangesti *dkk*, 2011).

Menurut Santoso dan Nursandi (2004) dalam pemahaman yang sederhana *culture* mengandung arti budidaya sedangkan *in vitro* dalam botol, berarti *culture in vitro* merupakan budidaya tanaman dalam botol. Pengertian lebih luas dari istilah itu adalah teknik budidaya sel, jaringan dan organ tanaman dalam suatu lingkungan yang terkendali dan dalam keadaan aseptik atau bebas mikroorganisme.

Secara teori perbanyak tanaman melalui kultur *in vitro* dapat dibedakan menjadi 2 yaitu:

1. Organogenesis yaitu perbanyakan melalui tunas-tunas baru dari tunas aksiler; pada perbanyakan ini dibedakan:
 - a. Dari tunas aksiler yang dimanfaatkan adalah meristemnya, sehingga dikenal sebagai kultur meristem. Pada teknik ini hal yang terpenting yang menjadi orientasi adalah menumbuhkan meristem, mendorong penunasan baru kemudian pengakaran.
 - b. Dari tunas aksiler yang dimanfaatkan adalah ujung tunasnya, sehingga dikenal sebagai kultur tunas. Pada teknik ini hal yang terpenting menjadi orientasi adalah bagaimana menumbuhkan tunas dan kemudian merangsang pengakaran.
 - c. Dari tunas aksiler yang dimanfaatkan adalah nodus tunggalnya sehingga dikenal sebagai mikro stek. Pada teknik ini yang menjadi orientasi adalah merangsang pertumbuhan tunas, sub kultur mikrostek untuk menghasilkan tunas baru, demikian seterusnya kemudian dilakukan pengakaran.
2. Embriogenesis somatik yaitu pembentukan tunas adventif dan pembentukan embrio somatik adventif. Pembentukan tunas adventif maupun embrio somatik dapat melalui cara morfogenesis langsung dan dapat pula secara morfogenesis tidak langsung.
 - a. Secara morfogenesis langsung, bahan tanam yang digunakan bisa bervariasi, yang jelas pada cara ini eksplan yang ditanam akan secara langsung membentuk tunas, dari sini baru dilakukan pengakaran atau secara langsung dari eksplan membentuk embrio somatik.

- b. Secara morfogenesis tidak langsung, bahan tanam yang digunakan juga sangat bervariasi, pada cara ini eksplan yang ditanam tidak secara langsung membentuk tunas atau embrio somatik, tetapi terlebih dahulu membentuk kalus. Dari kalus ini baru kemudian ada yang membentuk tunas adventif dan ada pula yang membentuk embrio somatik (Santoso dan Nursandi, 2004).

Menurut George dan Sherrington (1984), penggunaan teknik *in vitro* untuk memperbanyak tanaman mempunyai beberapa keuntungan jika dibandingkan dengan teknik konvensional yaitu: a) Teknik *in vitro* hanya membutuhkan sebagian kecil dari tanaman sebagai eksplan, yang kemudian ditumbuhkan untuk memperoleh tanaman dalam jumlah banyak; b) Faktor-faktor yang mempengaruhi regenerasi vegetatif seperti nutrisi, zat pengatur tumbuh, cahaya dan temperatur dapat diatur supaya laju perbanyakan mikro lebih besar dan menghasilkan lebih banyak tanaman; c) Teknik *in vitro* memungkinkan untuk menghasilkan klon dari sejumlah tanaman yang pertumbuhannya lambat atau sulit bahkan tidak mungkin diperbanyak secara vegetatif biasa; d) Perbanyakan tanaman dapat dilakukan sepanjang tahun dan tidak tergantung perubahan cuaca.

Perbanyakan tanaman tin secara *in vitro* telah dilakukan oleh Kumar, *et al.* (1998) dengan menggunakan eksplan tunas pucuk dan tunas aksiler. Medium yang digunakan adalah medium MS + 2 mg/L BAP + 0,2 mg/L NAA untuk induksi tunas, menghasilkan 4 tunas / eksplan dengan panjang rata-rata tunas 5,7 cm.

Keberhasilan kegiatan kultur *in vitro* ditentukan oleh pemilihan medium yang digunakan. Teknik kultur *in vitro* menekankan pada lingkungan yang cocok agar eksplan dapat tumbuh dan berkembang. Lingkungan yang cocok, sebagian akan terpenuhi jika medium yang dipilih mempertimbangkan apa-apa yang diperlukan oleh tanaman. Secara umum kebutuhan nutrisi kebanyakan tanaman sama, tetapi secara khusus hal tersebut berbeda. Kesamaannya adalah tanaman memerlukan: hara makro dan mikro, vitamin-vitamin, karbohidrat (gula), asam organik dan N-organik, zat pengatur tumbuh, zat pematid dan kadang ada penambahan bahan-bahan seperti air kelapa, ekstrak ragi, jus tomat, ekstrak kentang, penyangga organik, ataupun arang aktif. Kebutuhan tiap tanaman berbeda dalam hal komposisi dan jumlah yang diperlukan (Santoso dan Nursandi, 2004). Perbedaan komposisi medium mempengaruhi respon eksplan saat dikulturkan.

Perbedaan komposisi medium juga mempengaruhi arah pertumbuhan dan regenerasi eksplan. Meskipun demikian, medium yang telah diformulasikan tidak hanya berlaku untuk satu jenis eksplan dan tanaman saja. Beberapa jenis formulasi medium bahkan digunakan secara umum untuk berbagai jenis eksplan dan varietas tanaman seperti medium MS (*Murashige dan Skoog*). Namun ada juga beberapa jenis medium yang diformulasikan untuk tanaman-tanaman tertentu misalnya WPM (*Woody Plant Medium*) dan VW (*Vicent and Went*). Medium-medium tersebut dapat digunakan untuk berbagai tujuan seperti perkecambahan biji, kultur pucuk, kultur kalus, regenerasi tanaman melalui organogenesis dan embriogenesis (Fatimah, 2011).

Medium yang umum digunakan dalam kultur *in vitro* adalah medium padat, medium semi padat dan medium cair. Keadaan fisik medium akan mempengaruhi pertumbuhan kultur, kecepatan pertumbuhan dan diferensiasinya. Keadaan fisik medium ini mempengaruhi pertumbuhan antara lain karena efeknya terhadap osmolaritas larutan dalam medium serta ketersediaan oksigen bagi pertumbuhan eksplan yang dikulturkan (Fatimah, 2011).

Medium yang cocok digunakan untuk menumbuhkan eksplan tin adalah medium MS. Hal ini berdasarkan penelitian Hepaksoy dan Aksoy (2006) yang menyatakan bahwa medium paling baik untuk pertumbuhan eksplan tin terutama perakaran adalah medium MS dengan penambahan 1 mg/L IBA dan 1 mg/L GA₃, serta 5 mg/L BA. Hasil penelitian tersebut juga didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Kumar, *et al.* (1998) yang menyatakan medium MS ditambah dengan 2 mg/L BAP dan 0,2 mg/L NAA dapat memperpanjang tunas tin. Dengan demikian medium yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah medium Murashige and Skoog (MS).

C. Sterilisasi Eksplan

Sterilisasi adalah proses untuk mematikan atau menonaktifkan spora dan mikroorganisme sampai ke tingkat yang tidak memungkinkan lagi berkembang biak atau menjadi sumber kontaminan selama proses perkembangan berlangsung (Sandra dan Karyaningsih, 2000). Sterilisasi juga merupakan tahapan penting dalam proses kultur *in vitro*, karena dapat menentukan sterilitas eksplan dan juga keberhasilan inokulasi. Menurut Livy, W. (1987) ada sekitar sepuluh jenis bahan yang digunakan dalam sterilisasi permukaan, yaitu kalsium hipoklorit, natrium

hipoklorit, hidrogen peroksida, gas klorin, perak nitrat, merkuri klorid, betadin, fungisida, antibiotik, dan alkohol.

Menurut Kumar, *et al.* (1998) metode sterilisasi untuk eksplan tin yaitu dengan mencuci dalam air mengalir selama 45 menit, kemudian merendam dalam larutan NaClO 10 % yang ditambah 2 tetes deterjen cair selama 5 menit, kemudian dibilas dengan akuades sebanyak 3-4 kali, dilanjutkan dengan merendam eksplan dengan alkohol 70 % selama 30 detik, lalu direndam dalam larutan HgCl₂ 0,1 % selama 7 menit dan selanjutnya dibilas dengan larutan asam askorbat 0,1% sebanyak 5 kali.

Penelitian Hepaksoy dan Aksoy (2006) sterilisasi tunas pucuk tin yaitu dengan cara mencuci dengan air mengalir, kemudian merendam dengan NaClO 2 % yang telah ditambahkan 2 tetes *Tween 20* (deterjen cair) selanjutnya dibilas menggunakan akuades.

Hasil penelitian Zainal, M (2011) sterilisasi dengan pemotongan eksplan dalam larutan vitamin C 57,5 g/L, kemudian direndam dengan deterjen 2 g/L 10 menit, dilanjutkan fungisida 4 g /L 5 menit, dibilas alkohol 70 % 1 menit, terakhir direndam NaClO 5 % 5 menit dan NaClO 1 % 5 menit mampu menghasilkan eksplan hidup sebesar 88,89 %.

Dodi dkk, (2008) Eksplan tunas ubi kayu disterilisasi permukaan menggunakan air mengalir yang ditambah detergen selama 30 menit, fungisida 4 % *Dithane M* (30 menit), 0,1 % fungisida *Masalgin* (30 menit), 0,1 % HgCl₂ (3-5 menit) dan etanol 70 % (5 menit).

Metode sterilisasi disesuaikan dengan jenis eksplan dan kondisi lingkungan. Pada penelitian Erlina, S (2007) metode sterilisasi untuk lili (*Lilium* sp) yaitu dengan direndam larutan fungisida dan bakterisida dengan konsentrasi 2 g/liter, selama 1 jam. Selanjutnya direndam dalam alkohol 80 % selama 3 menit, kemudian dibilas dengan akuades steril tiga kali. Setelah itu direndam lagi dengan *clorox* 30 % selama 15 menit, dan dibilas lagi dengan akuades steril tiga kali.

D. Zat Pengatur Tumbuh (ZPT)

Keberadaan hormon dan zat pengatur tumbuh adalah mutlak dalam kultur *in vitro*, karena kegiatan kultur *in vitro* umumnya menggunakan bahan tanaman yang tidak lazim (sel, jaringan atau organ) dan budidayanya adalah terkendali. Proses tumbuh dan berkembangnya eksplan dapat disesuaikan dengan harapan, misalnya menjadi kalus saja, organogenesis ataupun embriogenesis. Pengaturan ini diyakini dapat dilakukan dengan mengatur macam, dan konsentrasi hormon atau ZPT tertentu sehingga menghasilkan kombinasi yang tepat sesuai dengan harapan (Santoso dan Nursandi, 2004).

Zat pengatur tumbuh yang sering digunakan dalam kultur *in vitro* antara lain: BAP (6-benzylaminopurine), NAA (*a-naftaleneasetat*) dan GA₃ (*giberellin acid*).

1. BAP (6-benzylaminopurine)

BAP merupakan zat pengatur tumbuh yang tergolong dalam sitokinin sintetik, yang dalam penggunaannya dipengaruhi oleh ZPT lainnya (Wattimena, 1988). BAP bersifat stabil dibandingkan dengan sitokinin lainnya, tidak mahal, tersedia cepat dan sangat efektif. Banyak peneliti yang melaporkan kegunaan dalam pembentukan kalus tetapi peranannya yang

penting adalah menginduksi pembentukan tunas (Zaerr dan Mapes dalam Bonga dan Durzan, 1985). BAP berperan dalam mengarahkan transpor zat hara, mendorong proses morfogenesis, pertunasan, pembentukan kloroplas, pemecahan dormansi, pembukaan stomata, pembungaan dan menstimulir proliferasi kalus dan meristem ujung (Santoso dan Nursandi, 2004). Hasil penelitian Andri Astuti (2005) perlakuan NAA + BAP berpengaruh nyata pada berat kering eksplan *Curcuma mangga* (Vall.et.Zyp). Hasil tertinggi berat kering dan berat basah diperoleh pada perlakuan NAA 0,1 mg/L + BAP 2 mg/L.

2. NAA (*a-naftaleneasetat*)

Hormon NAA adalah senyawa kimia yang termasuk dalam golongan auksin sintetik. Menurut Salisbury dan Ross (1995) bahwa NAA merupakan hormon tiruan IAA (*Indol Acetic Acid*) dan tidak dihasilkan oleh tanaman tetapi memiliki daya kerja seperti auksin. Lebih lanjut dinyatakan NAA lebih sering digunakan sebagai zat perangsang tumbuh dibandingkan IAA, karena NAA tidak terurai oleh enzim IAA oksidase atau enzim lain yang dikeluarkan oleh sel atau saat proses sterilisasi melalui pemanasan. NAA dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman berpengaruh terhadap protein membran, sehingga sintesis protein, asam nukleat dapat lebih cepat. Fungsi lain adalah sebagai efektor alosterik pada beberapa enzim, yaitu: RNA-ase, RNA polymerase, selulase, polisakarida sintetase, hemiselulase, protease, serta berperan dalam pembelahan sel, diferensiasi trakea, dominasi apikal,

pembentukan akar baru, dan pembentukan buah partenokarpi (Santoso dan Nursandi, 2004).

3. GA₃ (*giberellin acid*).

Giberellin merupakan senyawa *diterpenoit*. Struktur dasar kimia giberellin adalah kerangka giban dan kelompok karboksil bebas. Zat ini memiliki sifat-sifat antara lain : berbentuk kristal, sedikit larut dalam air, larut dengan bebas dalam methanol, ethanol, aseton, dan larut sebagian dalam etil asetat (Gardner, Pearce dan Mitchel, 1991 *dalam* Saut, 2002). Jenis zat pengatur tumbuh giberellin yang digunakan dalam kultur *in vitro* adalah giberellin yang terdiri dari GA₁, GA₂, GA₃ dan GA₄. Namun giberellin yang paling banyak digunakan adalah *giberellin acid* (GA₃). Giberellin berfungsi dalam proses perpanjangan batang, pertumbuhan buah, dan perkecambahan (Intan, 2008).

Penambahan 0,01 μ M GA₃ pada medium dapat mempengaruhi penambahan nodus pada pucuk aksiler jarak pagar (*Jatropha curcas* L.). Rata-rata panjang pucuk mencapai $1,27 \pm 0,25$ cm, rata-rata jumlah pucuk yang tumbuh per eksplan adalah $2,23 \pm 0,89$, dan rata-rata jumlah nodus per pucuk adalah $8,50 \pm 1,32$ (Dewi, 2005).

Pemberian giberellin (GA₃) 0,15-0,2 ppm (0,15-0,2 ml/L) dapat meningkatkan secara nyata jumlah tunas, tinggi tanaman, jumlah daun dan jumlah akar plantlet anggrek (Pandiangan dan Nainggolan, 2006).