

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tanaman Pule Pandak (*Rauwolfia serpentina* Benth ex. Kurz) merupakan tanaman obat potensial dari famili *Apocynaceae*. Tumbuhan ini banyak diminati oleh negara-negara industri farmasi dan merupakan spesies tumbuhan yang mempunyai pasaran baik di Amerika Serikat, Jepang, Jerman, Prancis, Swiss, dan Inggris. Tanaman pule pandak mengandung beberapa senyawa kimia diantaranya reserpin, rescinamine, dan ajmalin yang digunakan sebagai obat penurun tekanan darah tinggi, transqulizer (penenang), dan gangguan pada sistem sirkulator (Sulandjari *et al.*, 2005).

Tanaman pule pandak merupakan salah satu jenis tanaman yang keberadaannya sudah dinyatakan langka dan terancam punah (Sulandjari *et al.*, 2005).. Faktor penyebab kelangkaan tanaman pule pandak ini karena sebagian besar akar dimanfaatkan sebagai bahan pembuat obat. Bagian akar diperlukan untuk pertumbuhan pucuk tanaman pada umumnya. Apabila akar mengalami kerusakan karena gangguan secara biologis, fisik, atau mekanis dan menjadi kurang berfungsi, maka pertumbuhan pucuk juga akan kurang berfungsi, karena akar juga merupakan sumber utama beberapa pengatur pertumbuhan tanaman tertentu. Penyerapan air dan mineral terutama terjadi melalui ujung akar dan bulu

akar (Harjadi dan Yahya, 1988). Semakin tinggi permintaan terhadap tanaman Pule Pandak ini untuk dimanfaatkan, maka dapat menyebabkan ketersediaan dari tanaman ini berkurang (Zuhud dan Sitepu, 1994).

Perbanyakan tanaman pule pandak biasanya dilakukan secara generatif dengan menggunakan biji dan secara vegetatif dengan menggunakan akarnya, kedua teknik perbanyakan tersebut membutuhkan waktu yang lama. Upaya dalam pemenuhan kebutuhan akan permintaan tanaman pule pandak, maka diperlukan penerapan teknologi dalam perbanyakannya.

Dewasa ini telah berkembang teknik perbanyakan tanaman yang dapat memperbanyak tanaman hanya dengan mengambil bagian dari tanaman yang berpotensi untuk melakukan pembelahan dan ditanam di dalam media tertentu. Teknik ini dinamakan teknik kultur jaringan, menurut Zulkarnain (2009) kultur jaringan merupakan suatu metode untuk mengisolasi bagian dari tanaman seperti protoplasma, sel, jaringan dan organ, serta menumbuhkannya dalam kondisi yang aseptik sehingga bagian-bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman utuh kembali.

Teknik ini didasarkan pada teori totipotensi (total genetik potensial) yang dikemukakan oleh Schwann dan Schleiden yang menyatakan bahwa sel-sel bersifat otonom dan pada prinsipnya mampu beregenerasi menjadi tanaman lengkap (Gunawan, 1988; Zulkarnain, 2009).

Induksi kalus merupakan tahapan penting dalam budidaya jaringan tanaman karena kalus merupakan bahan penting untuk perbanyakan maupun rekayasa genetik (Rashid *et al.*, 2009). Kalus mempunyai kemampuan beregenerasi membentuk akar, tunas, dan embrio yang dapat membentuk tanaman dewasa lengkap (Farid, 2003).

Daya regenerasi suatu kalus sangat penting untuk menjamin keberhasilan produksi tanaman hasil rekayasa genetika (Rashid *et al.*, 2009). Hal tersebut dipengaruhi oleh umur kalus.

Daya regenerasi suatu kalus dapat menurun bahkan menghilang seiring dengan lamanya periode kultur kalus dan pindah tanam atau subkultur yang berulang. Periode kultur kalus yang panjang identik dengan penambahan umur kalus (Sukmadjaja dan Mulyana, 2011).

Sebagian besar peneliti mengkultur kalus dalam periode kultur tidak lebih dari 2 bulan contohnya pada tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L.) kalus berumur 21, 28 dan 35 hari telah siap untuk tahap regenerasi *in vitro*. Hal ini bertujuan untuk menghindari penurunan daya regenerasi dari kalus tersebut. Kalus yang terbentuk pada semua perlakuan, sel-selnya berhenti membelah dan akhirnya mengalami kematian setelah berumur lebih dari 60 hari. Kalus yang dikultur dalam periode panjang pada media dengan konsentrasi auksin cukup tinggi seperti halnya media induksi kalus memang beresiko tinggi mengalami penurunan daya regenerasi *in vitro* (Sukmadjaja dan Mulyana, 2011; Anjum *et al.*, 2012).

Eksplan merupakan salah satu penentu keberhasilan dalam proses induksi kalus. Eksplan yang biasa digunakan dalam induksi kalus diambil dari bagian daun muda tanaman pule pandak, karena daun muda pada umumnya mempunyai regenerasi yang tinggi dimana sel – selnya sedang aktif membelah atau bersifat meristematik (Suhariyanto, 2011). Selain eksplan, posisi penanaman juga mempengaruhi proses pertumbuhan kalus terutama pada eksplan daun. Adapun posisi penanaman eksplan daun dapat dilakukan secara adaksial (permukaan atas daun menyentuh media) dan secara abaksial (posisi tulang daun menyentuh media). Pada bagian permukaan atas daun terdapat lapisan kutikula (lapisan lilin) dan memiliki jumlah stomata yang sedikit, sedangkan pada bagian tulang daun memiliki jumlah stomata yang banyak sehingga proses respirasi berjalan secara optimal (Ethel, 2003).

Berdasarkan penelitian Coste *et al.*, (2011) posisi penanaman eksplan secara adaksial pada tanaman *Peucedanum oreoselinum* (L.) Moench memberikan persentase eksplan berkalus

lebih tinggi yaitu sebesar 20% sedangkan posisi penanaman secara abaksial persentase eksplan berkalus sebesar 10%. Namun pada tanaman pule pandak belum dilakukan penelitian tentang adaksial dan abaksial maka perlu dilakukan penelitian terhadap posisi penanaman eksplan dalam induksi kalus.

Media MS merupakan salah satu media yang dapat diterapkan dalam semua jenis tanaman yang akan dikulturkan terutama pada tanaman yang berasal dari jenis perdu (Suryowinoto, 1991). Media MS sering digunakan dalam kultur jaringan karena cukup memenuhi unsur hara makro, mikro, dan vitamin yang mendukung pertumbuhan tanaman (Marlina, 2004).

Teknik kultur jaringan berkembang pesat setelah ditemukannya zat pengatur tumbuh yang berfungsi untuk membantu dan mempercepat pertumbuhan tanaman kultur. Zat pengatur tumbuh pada tanaman merupakan senyawa organik bukan hara, dalam jumlah sedikit dapat mendukung, menghambat dan dapat merubah proses fisiologi tanaman (Abidin, 1985). Arah perkembangan kultur ditentukan oleh interaksi dan perimbangan antara zat pengatur tumbuh eksogen. Salah satu jenis zpt auksin yang biasa digunakan dalam kultur *in vitro* adalah 2,4-D (*2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid*) yang berperan dalam pembentukan kalus (Abidin, 1985). Pemakaian zat pengatur tumbuh 2,4-D biasanya digunakan dalam jumlah kecil dan dalam waktu yang singkat, antara 2-4 minggu. Hal ini dikarenakan 2,4-D merupakan jenis auksin yang kuat (Fitrianti, 2006).

Zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin tidak bekerja sendiri-sendiri tetapi kedua zpt tersebut bekerja secara interaksi dalam mengarahkan pertumbuhan dan perkembangan eksplan. Wareing dan Philips (1970) mengemukakan bahwa sitokinin akan merangsang pembelahan sel tanaman dan berinteraksi dengan auksin untuk menentukan arah diferensiasi sel. Jika suatu

eksplan diberi konsentrasi auksin dan sitokinin dalam jumlah yang seimbang, maka akan mendorong pembentukan kalus (Yusnita, 2003).

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana pengaruh penempatan posisi tulang daun terhadap pertumbuhan kalus Pule Pandak secara *in vitro*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari dilakukannya penelitian ini yaitu, untuk mengetahui pengaruh penempatan posisi tulang daun terhadap pertumbuhan kalus pule pandak secara *in vitro*.

1.4 Kegunaan Penelitian

1. Penelitian ini diharapkan dapat memperoleh hasil tentang pengaruh penempatan posisi tulang daun terhadap pertumbuhan kalus pule pandak secara *in vitro*.
2. Memberikan informasi lebih lanjut mengenai perlakuan yang paling baik terhadap pertumbuhan kalus pule pandak sehingga menjadi planlet dan ketersediaannya tetap terjaga.

1.5 Kerangka Pemikiran

Tanaman pule pandak (*Rauwolfia Serpentina* Benth ex. Kurz) berasal dari Negara India yang telah disebarluaskan di Negara-negara lain diantaranya Amerika Serikat, Inggris, Jepang, dan Jerman (Basori, 1993). Keberadaan tanaman pule pandak (*Rauwolfia Serpentina* Benth ex. Kurz) di Indonesia banyak terdapat di hutan yang berada di daerah Jawa Tengah dan sering ditemukan di pekarangan rumah sebagai tanaman hias karena tanaman ini merupakan tanaman

perdu tegak tahunan yang memiliki tinggi sekitar 1 meter. Tanaman pule pandak (*Rauwolfia Serpentina* Benth ex. Kurz) ini mempunyai manfaat sebagai obat yang dapat menyembuhkan berbagai penyakit di masyarakat, seiring dengan bertambahnya penggunaan tanaman pule pandak sebagai obat maka keberadaannya pun akan semakin berkurang.

Perbanyakan tanaman pule pandak bisa dilakukan melalui biji dan tunas akar, namun pertumbuhan tanamannya membutuhkan waktu yang relatif lama. Teknik kultur jaringan merupakan salah satu alternatif yang dapat dilakukan dalam perbanyakan tanaman, karena dapat memperbanyak tanaman dalam waktu yang singkat dan menghasilkan bibit yang banyak. Selain itu dapat juga menghasilkan tanaman yang tahan terhadap hama dan penyakit.

Kultur jaringan didasarkan pada teori totipotensi yang menunjukkan kemampuan tanaman yang diambil dari beberapa jenis organ (daun, akar, batang, tunas, bunga dan biji) untuk menjadi tanaman dewasa apabila disimpan di lingkungan yang sesuai. Penggunaan organ tanaman yang akan dijadikan sebagai eksplan hanya diperlukan sedikit saja namun dapat memperoleh bibit tanaman dalam jumlah yang banyak dan seragam.

Eksplan dalam perbanyakan tanaman secara kultur jaringan merupakan salah satu komponen yang penting, namun eksplan yang akan ditanam harus merupakan jaringan muda yang sedang aktif karena mempunyai regenerasi yang tinggi dimana sel – selnya sedang aktif membelah, kemudian mempunyai dinding sel tipis karena belum terjadi penebalan lignin dan selulosa yang menyebabkan kekakuan pada sel (Suharijanto, 2011). Menurut Wattimena (1992) perbedaan dari bagian tanaman yang digunakan akan menghasilkan pola pertumbuhan yang berbeda. Eksplan tanaman yang masih muda akan menghasilkan tunas maupun akar adventif lebih cepat bila dibandingkan dengan eksplan tanaman yang sudah tua (Suharijanto, 2011).

Induksi kalus merupakan salah satu langkah penting. Setelah itu diusahakan rangsangan agar terjadi diferensiasi, terjadi akar dan tunas (Suryowinoto, 1996). Sebagai contoh dalam rangka kegiatan produksi metabolit sekunder dengan teknik kultur suspensi atau kalus maka sebagai langkah pertama untuk membuat inokulum perlu dibuat kalus sebagai starting material. Pertumbuhan kalus biasanya dirangsang secara hormonal. Hormon yang banyak digunakan untuk induksi kalus adalah 2,4-D. Berdasarkan hasil penelitian Santoso & Nursandi (2001) berbagai macam eksplan sangat mempengaruhi kecepatan membentuk kalus. Eksplan daun mempunyai kemampuan tumbuh lebih cepat dibandingkan eksplan batang utama, atau tangkai bunga (Santoso & Nursandi, 2001).

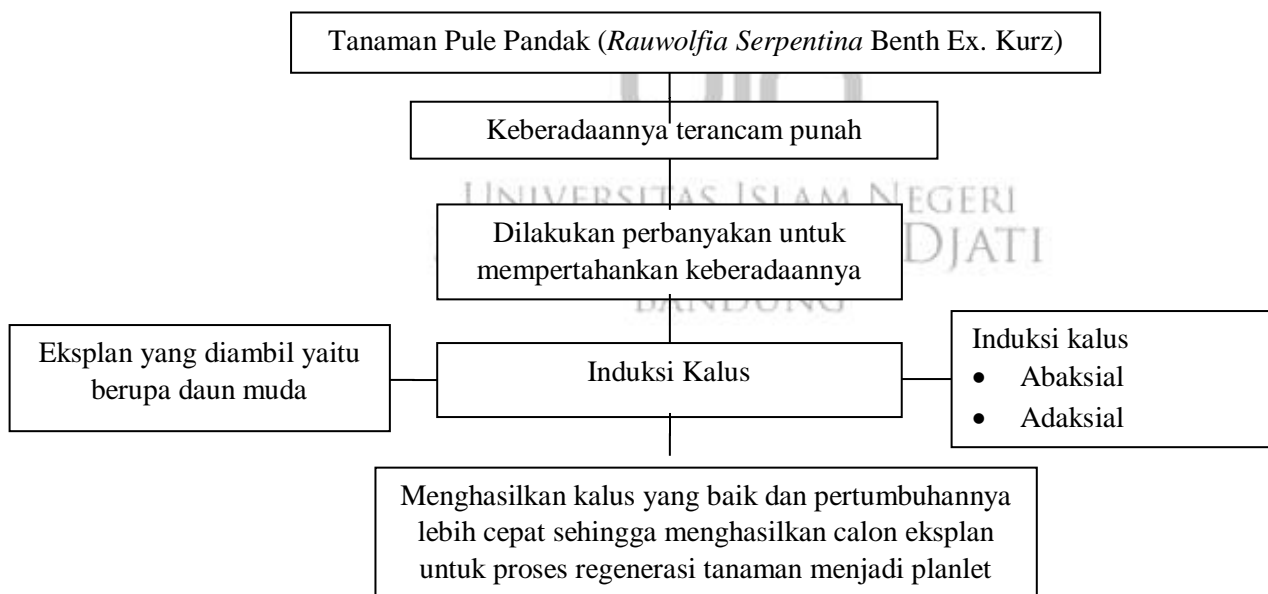
Berdasarkan penelitian Subhardra *et al.*, (2012) dengan penambahan 2,4-D pada konsentrasi 2,5 mg/l dapat menginduksi kalus sebesar 89% dengan waktu kemunculan kalus 25 hari. Hasil penelitian Runa Rashmi *et al.*, (2014) memperkuat lagi bahwa induksi kalus dengan menggunakan 2,4-D pada konsentrasi 2,5 mg/l dapat menginduksi kalus sebesar 97% dengan waktu kemunculan kalus yaitu 19 hari.

Daun merupakan salah satu eksplan yang baik digunakan dalam proses induksi kalus. Pada daun terdapat jaringan epidermis yang merupakan lapisan terluar daun. Pada epidermis, terdapat epidermis atas (adaksial) dan epidermis bawah (abaksial). Lapisan epidermis dilapisi oleh lapisan kutikula yang berfungsi untuk mencegah penguapan. Di antara sel epidermis terdapat sel penjaga yang membentuk stomata. Stomata adalah suatu celah pada epidermis yang dibatasi oleh dua sel penutup yang berisi kloroplas dan mempunyai bentuk serta fungsi yang berlainan dengan epidermis (Ethel, 2003).

Jumlah stomata pada bagian abaksial (bawah) lebih banyak dibandingkan dengan bagian adaksial (atas). Pada bagian adaksial (atas) terdapat lapisan kutikula yang tebal dan menutupi

stomata sehingga menghalangi terjadinya proses transpirasi. Hal ini mengakibatkan kerapatan stomata pada bagian abaksial lebih besar dari kerapatan stomata pada bagian adaksial (Muhuria 2007). Selain itu pada bagian abaksial (bawah) lapisan kutikula yang melapisi epidermis lebih tipis atau bahkan tidak di lapiasi oleh kutikula sehingga tidak ada atau sedikit penghalang untuk berlangsungnya proses transpirasi melalui stomata (Muhuria 2007). Pertumbuhan atau morfogenesis eksplan dapat juga dipengaruhi oleh cara penempatan eksplan dalam medium. Faktor ini erat kaitannya dengan transportasi hara dan zat pengatur tumbuh ke dalam eksplan (Wattimena, 1992). Proses penanaman secara adaksial pernah dilakukan oleh Shiferaw Teshome dan Tileye Feyissa 2015 pada tanaman *Glinus lotoides* (L.) dengan posisi penanaman secara adaksial mampu menginduksi kalus sebesar 100%.

Secara ringkas, kerangka berpikir ditampilkan pada bagan berikut:



Gambar 1. Alur Kerangka Pemikiran

1.6 Hipotesis

Berdasarkan kerangka pemikiran, maka hipotesis yang dapat dikemukakan yaitu, terdapat salah satu posisi daun terbaik dalam pertumbuhan kalus tanaman pule pandak.

