TEKNIK PEMBIBITAN BITTI (*Vitex cofassus* Reinw.)
SECARA KULTUR JARINGAN
(Seedling Cultivation Technique of Bitti (*Vitex cofassus* Reinw.)
by Tissue Culture Methode)

Oleh/By :
Suhartati

ABSTRACT

*The research of bitti (*Vitex cofassus* Reinw.) propagation by tissue culture methode, was aimed to know the best combination between explant source and growth regulators type to induce of callus formation, and also the best medium composition for the growth of bitti planlet. Two treatments were set: combination between explant source and growth regulator type and medium composition type. The results showed that a combination of embryo eksplan and 0.1 ppm NAA was the best combination to callus formation, and the 1.0 ppm BAP + 1.0 GA3 ppm composition was the most effective medium for shoot growth for bitti planlet.*

*Key words : Bitti, *Vitex cofassus* Reinw., tissue culture, culture medium, growth regulator, callus*

ABSTRAK

Teknik pembibitan bitti (*Vitex cofassus* Reinw.) dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Balai Penelitian dan Pengembangan Kehutanan Sulawesi, Makassar. Penelitian perbanyakan tanaman bitti secara kultur jaringan, bertujuan untuk mendapatkan informasi tentang kombinasi antara sumber eksplan dan jenis zat pengatur tumbuh yang terbaik untuk perkembangan kalus, serta komposisi media yang terbaik untuk pertumbuhan planlet tanaman bitti. Perlakuan yang dicobakan adalah kombinasi antara sumber eksplan dan jenis zat pengatur tumbuh, dan perlakuan berbagai jenis komposisi media kultur. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi antara sumber eksplan embrio dan 0,1 ppm NAA menghasilkan perkembangan kalus yang terbaik yaitu 90 %. Komposisi media yang terbaik untuk pertumbuhan tunas planlet adalah 1,0 ppm BAP + 1,0 ppm GA3. Media tersebut juga dapat untuk perbanyakan bibit bitti secara kultur jaringan.

Kata kunci : Bitti, *Vitex cofassus* Reinw., kultur jaringan, media kultur, zat pengatur tumbuh, kalus

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Bitti (*Vitex cofassus* Reinw.) merupakan salah satu spesies tanaman endemik Sulawesi, yang banyak dikembangkan sebagai komoditi tanaman di hutan rakyat, hutan kemasyarakatan, dan tanaman pekarangan, khususnya di wilayah Sulawesi Selatan. Kayu bitti dapat digunakan sebagai bahan bangunan, perabot rumah tangga, bahan untuk pembuatan perahu, tiang, dan papan. Sifat dasar kayu bitti termasuk kelas kuat II, dan bertekstur agak halus (Senc, 1990).

Tegakan bitti pada saat ini sebarannya sudah sangat terbatas, tumbuh dalam bentuk tegakan sekunder, kualitas pertumbuhan dan kayunya makin rendah. Selain itu, apabila dibiakkan secara generatif memerlukan waktu yang lama untuk berkecambah yaitu sekitar 30 hari, dan biji bitti termasuk rekalsitran sehingga tidak dapat disimpan terlalu lama. Persentase kecambah rata-rata hanya mencapai 40-60 %. Berdasarkan hal ini, dibutuhkan dukungan teknologi budidaya, khususnya teknik perbanyakan, baik secara generatif maupun vegetatif.

Pembibitan secara vegetatif adalah salah satu cara yang dapat mengatasi permasalahan tersebut di atas, karena

perbanyak ini dapat dilakukan dengan bagian vegetatif, tanpa menggunakan biji, dan sifat turunan sama dengan pohon induknya. Sejalan dengan perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi, maka saat ini perbanyak vegetatif dapat dilakukan dengan vegetatif mikro atau kultur jaringan.

Pembibitan secara kultur jaringan dapat dilakukan melalui dua tahap yaitu tahap pengkalusan dan tahap pembentukan planlet melalui pertunasan secara mikro. Kelebihan pembiakan secara kultur jaringan yaitu menghasilkan tanaman baru dalam jumlah banyak pada waktu singkat, sifat dan kualitas sama dengan induknya (Rahardja, 1994). Selain itu, pengadaan tanaman dapat dilakukan tanpa proses penanganan benih atau biji, dan tanaman yang dihasilkan bentuknya seragam dan bebas penyakit.

Keberhasilan perbanyak secara kultur jaringan sangat dipengaruhi oleh jenis bahan eksplan dan komposisi media yang digunakan. Eksplan adalah bagian-bagian vegetatif yang dapat dibiakkan melalui kultur jaringan, seperti embrio, kotiledon, daun, tunas, pucuk, bunga, dan akar. Komposisi media antara lain terdiri atas garam-garam organik, zat pengatur tumbuh (hormon), vitamin, dan agar-agar. Zat pengatur tumbuh (zpt) yang sangat penting adalah golongan auksin (NAA), sitokinin (BAP), giberilin (G3). Persenyawaan seperti casein, air kelapa, protein, arang aktif dibutuhkan dalam kasus-kasus tertentu (Gunawan, 1988).

Berdasarkan hal tersebut di atas, maka dilakukan percobaan pembibitan secara kultur jaringan pada tanaman bitti, untuk memperoleh informasi tentang cara pengadaan bibit tanaman yang berkualitas baik, untuk menunjang pembangunan dan pengembangan hutan tanaman.

B. Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan informasi :

1. Kombinasi antara sumber eksplan dan jenis zat pengatur tumbuh yang terbaik untuk perkembangan kalus pada tanaman bitti (*Vitex cofassus* Reinw.).
2. Komposisi media yang terbaik untuk pertumbuhan planlet tanaman bitti (*Vitex cofassus* Reinw.).

II. METODOLOGI

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Balai Penelitian dan Pengembangan Kehutanan Sulawesi, di Makassar, berlangsung dari bulan Agustus 2002 sampai Januari 2003.

B. Bahan dan Alat Penelitian

Bahan dan alat yang digunakan yaitu, sumber eksplan berupa pucuk daun dan biji, yang diambil dari salah satu pohon induk bitti yang ada di Kabupaten Bulukumba, Sulawesi Selatan. Media yang digunakan adalah media dasar MS (*Murashige and Skoogs*), garam-garam organik, zat pengatur tumbuh (zpt) yang terdiri atas *Naphthalene Acetic Acid* (NAA), *Indole Butyric Acid* (IBA), *2,4 Dichloro Phenoxy Acetic Acid* (2,4 D), Benzilaminipurin (BAP), Giberelin (GA3), Casein Hidrolisat (CH), agar-agar, arang aktif, clorox, alkohol, *aluminium foil*, dan peralatan laboratorium kultur jaringan.

C. Cara Pengumpulan Data

Penelitian ini diamati dua tahapan kegiatan yaitu tahap pengkalusan dan tahap pembentukan planlet sebagai awal perkembangan tanaman.

1. Tahap Pengkalusan

- a. Jenis eksplan yang digunakan adalah embrio dan daun muda.
- b. Eksplan terlebih dahulu disterilkan lalu diinduksi dalam media kultur.

- c. Media kultur terdiri atas media dasar MS (Lampiran 1) yang ditambahkan zat pengatur tumbuh.
- d. Zat pengatur tumbuh yang digunakan adalah 0,5 ppm BAP; 0,1 ppm NAA; 0,1 ppm IBA; dan 0,1 ppm 2,4 D.
- e. Perlakuan adalah kombinasi antara jenis eksplan dan jenis zat pengatur tumbuh yaitu : Embrio + 0,1 ppm NAA (E1); Embrio + 0,1 ppm 2,4 D (E2); Embrio + 0,1 ppm IBA (E3); Daun + 0,1 ppm NAA (D1); Daun + 0,1 ppm 2,4 D (D2); Daun + 0,1 ppm IBA (D3).

2. Tahap Pembentukan Planlet

- a. Terlebih dahulu dilakukan multiplikasi untuk memperbanyak planlet sebagai bahan untuk stek mikro.
- b. Stek mikro ditanam dalam media kultur yang terdiri atas berbagai komposisi media sebagai perlakuan.
- c. Larutan media terdiri atas media MS, 0,1 ppm NAA, 30 g/l sucrose, 8 g/l agar-agar, 150 ml air kelapa, dan 1,0 g arang aktif.
- d. Larutan tersebut ditambahkan zat BAP, Casein Hidrolisat, dan Giberillin sebagai perlakuan.
- e. Perlakuan media sebagai berikut : 1,0 ppm BAP (A); 3,0 ppm BAP (B); 5,0 ppm BAP (C); 1,0 ppm BAP + 0,2 gr CH (D); 3,0 ppm BAP + 0,2 gr CH (E); 5,0 ppm BAP + 0,2 gr CH (F); 1,0 ppm BAP + 0,1 ppm GA3 (G); 3,0 ppm BAP + 0,1 ppm GA3 (H); 5,0 ppm BAP + 0,1 ppm GA3 (I).

D. Analisis Data

1. Tahap Pengkalusan

Masing-masing perlakuan terdiri atas sepuluh botol yang berisi satu eksplan, pengamatan dilakukan secara deskriptif, dan data disajikan dalam bentuk tabel. Parameter yang diamati adalah persentase berkalus dan perkembangan kalus yang meliputi waktu mulai berkalus, ukuran kalus, dan warna kalus.

2. Tahap Pembentukan Planlet

Percobaan ini dirancang dengan pola Rancangan Acak Lengkap yang terdiri atas sembilan perlakuan media. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak lima ulangan, apabila pada sidik ragam menunjukkan pengaruh nyata pada uji F, maka analisis data dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Jujur (BNJ). Parameter yang diamati adalah waktu mulai bertunas dan berakar, jumlah tunas, tinggi tunas, jumlah daun, dan jumlah akar.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Tahap Pengkalusan

1. Persentase Berkalus

Hasil pengamatan persentase berkalus disajikan dalam Tabel 1.

Dalam Tabel 1, menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan E1 (embrio + 0,1 ppm NAA) memberikan hasil yang terbaik yaitu 90 % berkalus. Kombinasi perlakuan yang memberikan hasil terendah adalah D3 (daun + 0,1 ppm IBA) yaitu hanya 60 % berkalus.

Berdasarkan pengamatan eksplan embrio lebih banyak berkalus dibandingkan dengan eksplan daun, hal ini disebabkan eksplan daun lebih peka terkontaminasi dan mengalami *browning*. Untuk penggunaan eksplan daun masih perlu cara sterilisasi yang tepat, karena bagian daun yang digunakan sebagai sumber eksplan diambil dari lapangan.

Pada Tabel 1 juga dapat dilihat zat pengatur tumbuh yang terbaik adalah kombinasi 0,1 ppm NAA, kemudian 0,1 ppm 2,4 D dan 0,1 ppm IBA. Sesuai hasil penelitian Mardjono (1992), bahwa pembentukan kalus varietas tembakau dengan menggunakan zpt NAA lebih baik daripada zpt 2,4 D, pertumbuhannya lebih cepat dan warna kalus agak kehijauan. Wattimena (1992), melaporkan bahwa media MS yang ditambahkan auksin NAA dan sitokinin BAP dapat memperbanyak pertumbuhan tunas dan pembentukan kalus pada jenis *Begonia* sp. Kemudian Wetter and

Constabel (1991) mengatakan bahwa senyawa yang sering digunakan untuk induksi sel adalah zpt 2,4 D dan NAA yang dikombinasikan dengan sitokinin.

2. Perkembangan Kalus

Perkembangan kalus meliputi waktu mulai berkalus, ukuran kalus, dan warna kalus. Hasil pengamatan perkembangan kalus disajikan dalam Tabel 2.

Tabel 2 menunjukkan rata-rata eksplan daun lebih cepat berkalus dibandingkan dengan eksplan embrio, hal ini disebabkan eksplan embrio memerlukan waktu berkecambah sekitar tujuh hari lalu mengalami proses pembesaran sel (berkalus). Sedangkan pada kombinasi eksplan daun, langsung mengalami pembesaran sel pada tepi irisan daun, dan secara perlahan sel membengkak pada seluruh permukaan irisan daun.

Secara deskriptif terlihat bahwa ukuran kalus lebih besar pada perlakuan kombinasi media NAA, dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Adapun bobot

kalus pada umur satu bulan adalah 2,5 g untuk kombinasi eksplan daun, sedangkan kombinasi eksplan embrio adalah 2,0 g. Dalam pengamatan ini belum ada hubungan antara ukuran kalus dan bobot (berat) kalus. Kalus pada eksplan embrio berwarna putih bening, sedangkan eksplan daun berwarna kehijauan.

Menurut Hendaryono dan Ari (1994), bahwa pemberian 10 mg/l 2,4 D dan 0,1 mg/l IAA lebih efektif membentuk kalus pada jenis *E. urophylla* yaitu dapat membentuk kalus yang lebih padat dan berwarna putih. Selanjutnya Mardjono dan Sarwoso (1992), mengemukakan bahwa zpt NAA lebih baik daripada 2,4 D, untuk pertumbuhan kalus pada jenis tembakau karena lebih cepat berkalus, lebih berat dan warnanya jernih kehijauan. Kemampuan jaringan membentuk kalus dan laju pertumbuhan kalus tergantung pada jenis medium, zat pengatur tumbuh yang digunakan, dan faktor lingkungan (Wattimena, 1992).

Tabel (Table) 1. Rata-rata persentase berkalus (The average of the callus percentage)

Kombinasi perlakuan (Treatment combination)	Persentase berkalus (Callus percentage) (%)
E1 = Embrio + 0,1 ppm NAA (Embryo + 0,1 ppm NAA)	90
E3 = Embrio + 0,1 ppm 2,4 D (Embryo + 0,1 ppm 2.4D)	80
E2 = Embrio + 0,1 ppm IBA (Embryo + 0,1 ppm IBA)	70
D1 = Daun + 0,1 ppm NAA (Leaf + 0,1 ppm NAA)	70
D2 = Daun + 0,1 ppm 2,4 D (Leaf + 0,1 ppm 2.4D)	60
D3 = Daun + 0,1 ppm IBA (Leaf + 0,1 ppm IBA)	60

Tabel (Table) 2. Hasil pengamatan perkembangan kalus (The observation of the growth of callus)

Perlakuan media (Media treatment)	Mulai berkalus (Initiation of callus)	Ukuran kalus (Size of callus)	Warna kalus (Colour of callus)
E1 = Embrio+0,1 ppmNAA (Embryo+0,1 ppm NAA)	17 hari (days)	Besar (Large)	Bening (Transparent)
E2 = Embrio+0,1 ppm 2,4 D (Embryo+0,1 ppm 2.4D)	20 hari (days)	Sedang (Medium)	Kecoklatan (Brownish)
E3 = Embrio+0,1 ppm IBA (Embryo+0,1 ppm IBA)	19 hari (days)	Sedang (Medium)	Bening (Transparent)
D1 = Daun + 0,1 ppm NAA (Leaf + 0,1 ppm NAA)	15 hari (days)	Sedang (Medium)	Agak hijau (Greenish)
D2 = Daun + 0,1 ppm 2,4 D (Leaf + 0,1 ppm 2.4 D)	16 hari (days)	Kecil (Small)	Agak hijau (Greenish)
D3 = Daun+ 0,1 ppm IBA (Leaf + 0,1 ppm IBA)	16 hari (days)	Kecil (Small)	Agak hijau (Greenish)

B. Tahap Pembentukan Planlet

1. Pembentukan Tunas dan Akar

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh sangat nyata terhadap pembentukan tunas dan akar. Sidik ragam waktu pembentukan tunas dan akar tercantum dalam Lampiran 2.

Uji BNJ memperlihatkan bahwa pada perlakuan media 1,0 ppm BAP + 0,1 ppm GA3, 0,3 ppm GA3, dan 5,0 ppm BAP + 0,1 ppm GA3), adalah perlakuan paling cepat bertunas yaitu rata-rata lima hari sudah mulai bertunas, dan ketiga kombinasi perlakuan tersebut tidak saling berbeda nyata, namun berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Hasil uji BNJ waktu pembentukan tunas dan akar disajikan dalam Tabel 3 dan Tabel 4.

Waktu pembentukan akar paling cepat pada media yang ditambahkan 0,1 ppm BAP (A), 3,0 ppm BAP (B), dan 5,0

ppmBAP (C), yaitu rata- rata hari ke-23, disajikan dalam Tabel 4.

Perlakuan yang paling cepat bertunas yaitu media yang ditambahkan 0,1 ppm GA3, hal ini menunjukkan adanya keseimbangan antara zpt yang ditambahkan ke dalam media tersebut. Penggunaan konsentrasi 1,0 ppm BAP + 0,1 ppm GA3 merupakan kombinasi media yang tepat untuk pembentukan tunas. Pemberian sitokinin ke dalam media dapat merangsang pembentukan tunas aksilar, karena dapat mengurangi dominasi apikal. Pembentukan tunas dapat dirangsang dengan pemberian sitokinin dengan konsentrasi tinggi, dan sebaliknya auksin dengan konsentrasi rendah (Pierik,1987).

Triatminingsih (1992), melaporkan bahwa penggunaan 1,0 ppm BAP dapat meningkatkan pembentukan tunas pucuk jeruk, sedangkan GA3 berfungsi memacu

Tabel (Table) 3. Rata-rata waktu pembentukan tunas (*The average time of bud formation*)

Pelakuan media (<i>Media treatment</i>)	Waktu (<i>Time</i>)/Hari (<i>Days</i>)
5,0 ppm BAP + 0,1 ppm GA3 (I)	4,8 a
3,0 ppm BAP + 0,1 ppm GA3 (H)	5,4 a
1,0 ppm BAP + 0,1 ppm GA3 (G)	5,8 a
5,0 ppm BAP + 2,0 g CH (F)	8,0 b
3,0 ppm BAP + 2,0 g CH (E)	8,2 b
1,0 ppm BAP + 2,0 g CH (D)	8,2 b
5,0 ppm BAP (C)	8,4 b
3,0 ppm BAP (B)	8,4 b
1,0 ppm BAP (A)	8,6 b

Keterangan (*Remarks*): Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama, tidak berbeda nyata pada taraf 0,05 (*Figures followed by the same letters, are not significantly different at 0.05 level*)

Tabel (Table) 4. Rata-rata waktu pembentukan akar (*The average of rooting time*)

Pelakuan media (<i>Media treatment</i>)	Waktu (<i>Time</i>)/Hari (<i>Days</i>)
1,0 ppm BAP (A)	22,6 a
3,0 ppm BAP (B)	22,8 a
5,0 ppm BAP (C)	25,4 ab
1,0 ppm BAP + 2,0 g CH (D)	25,6 abc
3,0 ppm BAP + 2,0 g CH (E)	29,4 bc
5,0 ppm BAP + 2,0 g CH (F)	30,8 bc
1,0 ppm BAP + 0,1 ppm (G)	31,4 c
3,0 ppm BAP + 0,1 ppm (H)	31,4 c
5,0 ppm BAP + 0,1 ppm (I)	37,6 d

Keterangan (*Remarks*) : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama, tidak berbeda nyata pada taraf 0,05 (*Figures followed by the same letters, are not significantly different at 0.05 level*)

pemanjangan tunas pucuk. Selanjutnya oleh Nazir *et al.* (1992) dikemukakan bahwa penggunaan 2,0 ppm BAP atau kinetin ditambahkan 0,1 ppm NAA, dapat memberikan respon pertumbuhan yang baik pada tunas rambutan secara *invitro*, sedangkan konsentrasi 0,1 ppm NAA lebih efektif daripada 0,5 ppm NAA. Pembentukan dan perkembangan mata tunas menjadi tunas sangat ditentukan oleh ketepatan konsentrasi sitokinin yang dapat memacu pertumbuhan tunas (Pierik, 1987).

Media yang ditambahkan 1,0 ppm BAP (A), dapat membentuk akar paling cepat, sebaliknya pembentukan tunas terhambat. Wattimena (1988) melaporkan bahwa penggunaan sitokinin dalam kultur jaringan berhubungan dengan proses pembelahan sel, pembentukan tunas, dan penghambatan pembentukan akar. Gunawan (1988) mengemukakan bahwa penggunaan BAP pada konsentrasi tinggi, sering menyebabkan planlet sulit berakar dan menghambat aktivitas NAA untuk membentuk akar. Selanjutnya dikatakan bahwa morfogenesis akar dan tunas dipengaruhi oleh nisbah auksin dan sitokinin. Nisbah auksin-sitoksin yang tinggi akan mendorong pembentukan akar.

Pembiakan melalui kultur jaringan sama dengan perbanyakan dengan stek makro, yaitu tunas terbentuk lebih awal kemudian berakar, perbedaannya yakni pada perbanyakan stek makro diusahakan pembentukan tunas harus hampir

bersamaan dengan pembentukan akar. Sedangkan pada pembiakan secara kultur jaringan, walaupun sudah bertunas, tetapi belum terbentuk akar, tanaman masih dapat bertahan hidup lebih lama. Sebagaimana pengamatan pada tanaman bitti, yaitu tunas mulai terbentuk pada hari ke-5 sedangkan akar terbentuk pada hari ke-23. Hal ini menunjukkan bahwa pertumbuhan *invitro* tidak tergantung pada perakaran, karena senyawa-senyawa dibutuhkan untuk pertumbuhan planlet sudah tersedia dalam media kultur (pertumbuhan heterotrop). Pembentukan akar dapat dipacu dengan penggunaan auksin dalam konsentrasi tinggi.

2. Jumlah Tunas dan Tinggi Tunas

Hasil sidik ragam (Lampiran 2) menunjukkan bahwa perlakuan media berpengaruh sangat nyata terhadap jumlah tunas dan tinggi tunas pada planlet. Uji BNJ pada rata-rata jumlah tunas disajikan pada Tabel 5.

Perlakuan yang menghasilkan tunas paling banyak yaitu yang ditambahkan GA3 (G, H, I) dan perlakuan tersebut tidak berbeda nyata dengan perlakuan lainnya, kecuali perlakuan 1,0 ppm BAP (A) dan 3,0 ppm BAP (B).

Jumlah tunas paling banyak pada perlakuan yang ditambahkan GA3, yaitu rata-rata 4,0 tunas, namun uji statistik menunjukkan perlakuan tersebut tidak berbeda nyata dengan perlakuan yang menghasilkan rata-rata 3,0 tunas. Pertumbuhan jumlah tunas sama halnya

Tabel (Table) 5. Rata-rata jumlah tunas (The average of bud amount)

Pelakuan media (Media treatment)	Jumlah tunas (Bud amount)
1,0 ppm BAP (A)	2,4 a
3,0 ppm BAP (B)	2,4 a
5,0 ppm BAP (C)	2,8 ab
1,0ppm BAP + 2,0 g CH (D)	3,0 ab
3,0 ppm BAP + 2,0 g CH (E)	3,2 ab
5,0 ppm BAP + 2,0 g CH (F)	3,2 ab
1,0 ppm BAP + 0,1 ppm (G)	4,0 b
3,0 ppm BAP + 0,1 ppm (H)	4,0 b
5,0 ppm BAP + 0,1 ppm (I)	4,0 b

Keterangan (Remarks) : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama, tidak berbeda nyata pada taraf 0,05 (Figures followed by the same letters, are not significantly different at 0.05 level)

kecepatan bertunas, yaitu media yang efektif digunakan adalah kombinasi media 0,1 ppm BAP + 0,1 ppm GA3. Penggunaan BAP pada konsentrasi yang tepat sangat efektif merangsang penggandaan tunas, karena penambahan BAP dalam media kultur dapat mendorong pembentukan zeatin yang berperan aktif dalam organogenesis secara alami (George and Serrington, 1984).

Hendaryono dan Ari (1994), melaporkan bahwa penggunaan media MS + 0,1 ppm BAP sebagai media kultur pada *E. urophylla* dapat menghasilkan 2-5 tunas, sedangkan pada *E. tereticornis* membutuhkan kombinasi 1,0 ppm NAA + 1,0 ppm BAP atau 0,5 ppm BAP ditambahkan 500 ppm air kelapa. Selanjutnya pada *P. caribae* membutuhkan 2,0 ppm BAP untuk induksi tunas secara *invitro*.

Media yang ditambahkan dengan 3,0 ppm BAP dapat menghasilkan tunas paling banyak yaitu empat sampai lima tunas pada kultur jaringan melinjo (*Gnetum gnemon*). Pada konsentrasi 0,1 ppm NAA + 7,0 ppm BAP pertumbuhan tunas melinjo terhambat, hal ini berarti keseimbangan antara zpt sebagai komponen media kultur sangat menentukan pertumbuhan planlet. Keseimbangan antara sitokinin dan auksin yang digunakan pada media kultur berbeda pada setiap jenis tanaman (Meriska *et al.*, 1992).

Dalam Tabel 6, terlihat bahwa pada semua kombinasi perlakuan menghasilkan rata-rata tinggi tunas di atas 4,0 cm, hasil pengamatan menunjukkan bahwa perlakuan yang terbaik adalah pada media yang ditambahkan 5,0 ppm BAP + 2,0 g CH (F). Perlakuan ini tidak berbeda nyata dengan perlakuan lainnya, kecuali pada perlakuan media 0,1 ppm BAP (A).

Penggunaan GA3 sama pengaruhnya dengan CH terhadap pertumbuhan tinggi tunas stek mikro pada tanaman bitti. CH adalah salah satu sumber asam amino yang dapat mempengaruhi pembelahan sel dan morfogenesis, sedangkan GA3 berfungsi memacu pemanjangan sel-sel, sehingga dapat menaikkan persentase tumbuh tunas (Triatminingsih, 1992 dalam Navarro, 1975). Benziladenin (BA) atau sitokinin dari jenis NAA, IBA, dan GA3 dapat menyebabkan diferensiasi dan pertumbuhan tunas (Wetherell, 1982).

Ukuran tunas paling tinggi dihasilkan pada kombinasi perlakuan yang ditambahkan 0,2 g CH, yaitu tinggi rata-rata 4,88 cm, namun perlakuan tersebut tidak berbeda nyata dengan perlakuan yang ditambahkan 0,1 ppm GA3. Pertumbuhan tinggi tunas selain dipengaruhi oleh keseimbangan konsentrasi NAA dan BAP, juga dapat dipengaruhi adanya penambahan CH dan GA3. Sebagaimana hasil penelitian Nazir *et al.* (1992), bahwa penggunaan media

Tabel (Table) 6. Rata-rata tinggi tunas (*The average height of bud*)

Pelakuan media (<i>Media treatment</i>)	Tinggi tunas (<i>Bud height</i>) (cm)
1,0 ppm BAP (A)	4,42 a
3,0 ppm BAP (B)	4,54 ab
5,0 ppm BAP (C)	4,54 ab
1,0 ppm BAP + 0,1 ppm (G)	4,82 ab
3,0 ppm BAP + 0,1 ppm (H)	4,84 ab
5,0 ppm BAP + 0,1 ppm (I)	4,84 ab
1,0 ppm BAP + 2,0 g CH (D)	4,86 ab
3,0 ppm BAP + 2,0 g CH (E)	4,86 ab
5,0 ppm BAP + 2,0 g CH (F)	4,88 b

Keterangan (*Remarks*) : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama, tidak berbeda nyata pada taraf 0,05 (*Figures followed by the same letters, are not significantly different at 0.05 level*)

WPM + 0,1 ppm NAA + 2,0 ppm BAP pada kultur jaringan rambutan, dapat mencapai panjang tunas setinggi 3 cm dalam waktu empat bulan. Selanjutnya Wattimena (1992) mengemukakan bahwa GA3 dapat mempengaruhi perpanjangan batang dan memperluas daun pada berbagai jenis tanaman. Beberapa hasil penelitian oleh George dan Sherrington (1984) melaporkan bahwa penggunaan CH pada kultur *Negella sativa*, sangat esensial untuk pembentukan tunas adventif, sedangkan pada kultur bunga tulip membutuhkan media MS + 1,0 ppm BAP + 500 ppm CH untuk pembentukan tunas adventif. Selanjutnya penggunaan 0,5 ppm NAA + 10 ppm Kinetin 1,0 g CH pada kultur tanaman *P. hortunium*, dapat menghasilkan tiga sampai empat tunas dalam waktu tujuh minggu. Penggunaan 1,0 ppm BAP + 80 ppm Adenin Sulfat + 500 ppm CH dapat memperbanyak tunas pada kultur pepaya (*Carica papaya*).

Jumlah tunas dan tinggi tunas pada kultur jaringan tanaman bitti, selain dipengaruhi adanya keseimbangan konsentrasi NAA dan BAP, juga penambahan GA3 dan CH. Hasil pengamatan pada percobaan ini menunjukkan jumlah tunas paling banyak yaitu pada media yang mengandung GA3 namun tunas yang paling tinggi yaitu pada media yang mengandung CH. Uji statistik menunjukkan GA3 dan CH sama pengaruhnya terhadap tinggi tunas.

Dengan demikian, penggunaan kombinasi media yang dapat digunakan adalah 1,0 ppm BAP + 2,0 g CH atau 1,0 ppm BAP + 0,1 ppm GA3.

Hasil dari penelitian kultur jaringan ini, dapat dilanjutkan atau disubkulturkan untuk pembiakan selanjutnya sebagai sumber eksplan, maka dalam hal ini pertambahan jumlah tunas yang lebih diutamakan, sedangkan untuk persiapan pengadaan bibit, maka pertumbuhan tinggi tunas lebih diutamakan.

3. Jumlah Daun dan Jumlah Akar

Hasil sidik ragam dalam Lampiran 2, menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan berpengaruh sangat nyata terhadap jumlah daun dan jumlah akar pada planlet bitti. Hasil uji BNJ dan rata-rata jumlah daun dan jumlah akar disajikan dalam Tabel 7 dan Tabel 8.

Hasil pengamatan menunjukkan jumlah daun paling banyak pada media yang ditambahkan 0,1 ppm GA3 yaitu rata-rata 21 helai dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan yang dikombinasikan dengan CH. Kombinasi perlakuan tersebut, berbeda nyata dengan media yang hanya mengandung NAA dan BAP, yang menghasilkan jumlah daun sebanyak 12 sampai 13 helai.

Jumlah daun paling banyak dihasilkan pada kombinasi perlakuan yang ditambahkan GA3 dan CH. Hal ini disebabkan pengaruh GA3 dan CH sebagai salah satu jenis zpt yang efektif

Tabel (Table) 7. Rata-rata jumlah daun (The average of leaf amount)

Pelakuan media (Media treatment)	Jumlah daun (Leaf amount)
1,0 ppm BAP (A)	12,0 a
3,0 ppm BAP (B)	13,2 a
5,0 ppm BAP (C)	13,6 a
1,0 ppm BAP + 2, 0 g CH (D)	17,6 b
3,0 ppm BAP + 2,0 g CH (E)	18,4 bc
5,0 ppm BAP + 2,0 g CH (F)	19,8 bc
1,0 ppm BAP + 0,1 ppm (G)	20,2 c
3,0 ppm BAP + 0,1 ppm (H)	20,6 c
5,0 ppm BAP + 0,1 ppm (I)	20,6 c

Keterangan (Remarks) : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama, berbeda tidak nyata pada taraf 0,05 (Figures followed by the sama letters, are not significantly different at 0.05 level)

Tabel (Table) 8. Rata-rata jumlah akar (*The average of root amount*)

Pelakuan media (<i>Media treatment</i>)	Jumlah akar (<i>Root amount</i>)
5,0 ppm BAP + 0,1 ppm GA3 (I)	1,2 a
3,0 ppm BAP + 0,1 ppm GA3 (H)	1,8 ab
1,0 ppm BAP + 0,1 ppm GA3 (G)	2,4 abc
5,0 ppm BAP + 2,0 g CH (F)	3,0 bcd
3,0 ppm BAP + 2,0 g CH (E)	3,0 bcd
1,0 ppm BAP + 2,0 g CH (D)	3,4 cd
5,0 ppm BAP (C)	4,0 de
3,0 ppm BAP (B)	4,6 e
1,0 ppm BAP (A)	4,6 e

Keterangan (*Remarks*) : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama, berbeda tidak nyata pada taraf 0,05 (*Figures followed by the same letters, are not significantly different at 0.05 level*)

merangsang perkembangan sel. Wetherell (1982), menyatakan bahwa GA3 dapat merangsang pembentukan organ baru dan mempengaruhi pembentukan daun. Selanjutnya Wattimena (1988) menyatakan bahwa GA3 selain memperpanjang batang, juga dapat memperbesar luas daun. Hasil pengamatan dalam penelitian ini menghasilkan rata-rata ukuran daun pada planlet bitti yaitu berukuran panjang 1,5 sampai 3,5 cm dan lebar 0,5 sampai 1,5 cm.

Jumlah akar paling banyak yaitu pada media yang ditambahkan 1,0 ppm BAP (A) dan 3,0 ppm BAP (B) yaitu rata-rata lima akar, sedangkan paling sedikit yaitu rata-rata satu akar. Perlakuan yang menghasilkan jumlah daun paling banyak, sebaliknya menghasilkan jumlah akar paling sedikit.

Jumlah akar paling sedikit dihasilkan pada media yang ditambahkan GA3, hal ini sesuai dengan pernyataan Gunawan (1988) bahwa giberelin kadang-kadang membantu morfogenesis, tetapi menghambat perakaran. Hasil penelitian pada planlet bitti memperlihatkan bahwa pengaruh GA3 dan CH dapat mempengaruhi pertumbuhan daun, sebaliknya menghambat perakaran.

Pembiakan kultur jaringan pada tanaman bitti, dapat dimanfaatkan untuk dua kepentingan yaitu sebagai sumber eksplan untuk pembiakan selanjutnya dan sebagai persiapan bibit tanaman untuk penanaman di lapangan.

VI. KESIMPULAN DAN SARAN

1. Kombinasi eksplan embrio dan 0,1 ppm NAA menghasilkan persentase berkalus paling banyak yaitu 90 %, ukuran kalus yang besar, serta warna kalus yang segar.
2. Kombinasi eksplan daun dan 0,1 ppm NAA menunjukkan waktu berkalus yang lebih cepat yaitu 15 hari.
3. Media yang terbaik untuk pertumbuhan tunas planlet yaitu 1,0 ppm BAP + 1,0 ppm GA3, sedangkan untuk media perakaran cukup menggunakan 1,0 ppm BAP.
4. Perbanyak bibit tanaman bitti (*Vitex cofassus* Reinw.) yang dilakukan secara kultur jaringan dapat menggunakan media 1,0 ppm BAP + 1,0 ppm GA3.
5. Untuk mendapatkan tanaman bitti (*Vitex cofassus* Reinw.) yang berkualitas unggul, maka disarankan penelitian ini dilanjutkan ke tahap pemeliharaan bibit di persemaian dan uji coba penanaman di lapangan.

DAFTAR PUSTAKA

- George, E.F. and P.D. Sherrington. 1984. Plant propagation by tissue culture. Ltd England.
- Gunawan I.W. 1988. Teknik kultur jaringan tumbuhan. Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan. Pusat

- Antar Universitas (PAU) Bioteknologi IPB - Bogor.
- Hendaryono, D.P.S. dan W. Ari. 1994. Teknik kultur jaringan. Pengenalan dan Petunjuk Perbanyak Tanaman Secara Vegetatif Modern. Kanisus. Yogyakarta.
- Mardjono, B dan Sarwoso. 1992. Perbaikan varietas tembakau melalui teknik kultur jaringan. Prosiding Seminar Hasil Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi LIPI. Bogor.
- Nazir, Elfrida dan M. Winarno. 1992. Pengaruh NAA, BAP, dan kinetin pada media WPM terhadap pertumbuhan mata tunas rambutan secara *invitro*. IPB. Bogor.
- Mariska, L. Deden S. and Endang G. 1992. Perbanyak vegetatif tanaman melinjo melalui kultur jaringan. Prosiding Bioteknologi Untuk Menunjang Pembangunan Nasional. Bogor.
- Pierik, R.I.M. 1987. In vitro of higher plant. Marthinus Nijhoff Publisher. Dodrecht 344.
- Rahardja, P.C. 1994. Kultur jaringan. Teknik perbanyak tanaman secara modern. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Senc, Oey Djoen. 1990. Specific gravity of Indonesia wood and significance for practical use. (Terjemahan). Pusat Litbang Hasil Hutan Bogor.
- Triatminingsih, R. 1992. Pengaruh pencelupan tunas pucuk dalam BAP dan GA3 terhadap keberhasilan penyambungan tunas pucuk jeruk secara *in vitro*. Prosiding Bioteknologi untuk Menunjang Pembangunan Nasional. Bogor.
- Wattimena, G.A. 1988. Zat pengatur tumbuh. PAU IPB Bogor. Bogor.
- Wattimena, G.A. 1992. Bioteknologi tanaman. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Dirjen Pendidikan Tinggi. PAU IPB Bioteknologi. ITB. Bandung.
- Wetherell, D.F. 1982. Pengantar propagasi tanaman secara *in vitro*. (Terjemahan Koesnomarjinah). Avery Publishing Corp. Inc. New York.
- Wetter, L.R. and F. Conslabel. 1991. Metode kultur jaringan tanaman. Plant biochemistry section praire regional laboratory Sishatoon. Soscatchewan. Canada.

Lampiran (Appendix) 1. Media MURASHIGE dan SKOOG'S (Media MS) (*Medium of Murashige and Skoogs*)

Stok (Stock)	Zat organik (Organic substance)	Jumlah (Total) (mg/l)
A	NH ₄ NO ₃	1.650,000
	KNO ₃	1.900,000
	MgSO ₄ 7H ₂ O	370,000
	KH ₂ PO ₄	170,000
	H ₃ B ₃	6,200
	MnSO ₄ 4H ₂ O	22,300
	ZnSO ₄ 7H ₂ O	8,600
	KI	0,830
	NaMoO ₄ 2H ₂ O	0,250
	CuSO ₄ 5H ₂ O	0,025
B	CaCl ₂ 6H ₂ O	440,000
C	Na ₂ -ADTA*	37,300
	FeSO ₄ 7H ₂ O	27,800
D	myo-inositol	100,000
E	Pyridoxine-HCl	0,500
	Thiamine-HCl	0,100
	Nicotine-acid	0,500
	Glicine	2,000
	Sukrose	30,000
	Agar	8,000
	PH	5,8

*: Ethyleneddiminetetraacetic acid, disodium salt.

Lampiran (Appendix) 2.

A. Sidik ragam waktu pembentukan tunas (*Analysis of variance of bud formation period*)

Sumber keragaman (Source of variation)	db (df)	JK (SS)	KT (MS)	F.hit (F.calc)	F.tab	
					0.05	0.01
Perlakuan (Treatment)	8	91,64	11,46	17,1**	2,21	3,04
Galat (Error)	36	24,00	0,67			
Jumlah (Total)	44	115,64				

Keterangan (Remarks) : ** Sangat nyata (*Highly significant*)B. Sidik ragam waktu pembentukan akar (*Analysis of variance of root formation period*)

Sumber keragaman (Source of variation)	db (df)	JK (SS)	KT (MS)	F.hit (F.calc)	F.tab	
					0.05	0.01
Perlakuan (Treatment)	8	955,11	119,39	17,9**	2,21	3,04
Galat (Error)	36	240,00	6,67			
Jumlah (Total)	44	1195,11				

Keterangan (Remarks) : ** Sangat nyata (*Highly significant*)

Lampiran (Appendix) 2. Lanjutan (Continued)

C. Sidik ragam jumlah tunas (Analysis of variance of the amount of bud)

Sumber keragaman (Source of variation)	db (df)	JK (SS)	KT (MS)	F.hit (F.calc)	F.tab 0.05 0.01	
Perlakuan (Treatment)	8	20,80	2,60	6,67**	2,21	3,04
Galat (Error)	36	14,00	0,39			
Jumlah (Total)	44	34,80				

Keterangan (Remarks) : ** Sangat nyata (Highly significant)

D. Sidik ragam tinggi tunas (Analysis of variance of bud hight)

Sumber keragaman (Source of variation)	db (df)	JK (SS)	KT (MS)	F.hit (F.calc)	F.tab 0.05 0.01	
Perlakuan (Treatment)	8	1,28	0,16	4,32**	2,21	3,04
Galat (Error)	36	1,32	0,04			
Jumlah (Total)	44	2,60				

Keterangan (Remarks) : ** Sangat nyata (Highly significant)

E. Sidik ragam jumlah daun (Analysis of variance of the amount of leaf)

Sumber keragaman (Source of variation)	db (df)	JK (SS)	KT (MS)	F.hit (F.calc)	F.tab 0.05 0.01	
Perlakuan (Treatment)	8	481,60	60,20	76,2**	2,21	3,04
Galat (Error)	36	28,40	0,79			
Jumlah (Total)	44	510,00				

Keterangan (Remarks) : ** Sangat nyata (Highly significant)

F. Sidik ragam jumlah akar (Analysis of variance amount of root)

Sumber keragaman (Source of variation)	db (df)	JK (SS)	KT (MS)	F.hit (F.calc)	F.tab 0.05 0.01	
Perlakuan (Treatment)	8	56,4	7,00	20,59**	2,21	3,04
Galat (Error)	36	12,40	0,34			
Jumlah (Total)	44	68,44				

Keterangan (Remarks) : ** Sangat nyata (Highly significant)