

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Lili putih (*Lilium longiflorum* Thunb. var. *liani*) merupakan salah satu anggota famili *Liliaceae* yang berbunga, dibudidayakan sebagai bunga potong yang banyak ditanam di daerah pegunungan Indonesia. Lili putih adalah bunga yang paling menarik dan populer dari golongan tanaman umbi-umbian.

Penampilannya cantik dengan warna bunga yang spektakuler, digunakan sebagai bunga potong dan tanaman pot di dunia (Sarvade *et al.*, 2015). Sangat disukai sebagai bunga potong karena mempunyai umur simpan yang panjang. Lilium termasuk pada urutan ke-5 dari 15 bunga potong teratas dalam penjualan di pelelangan bunga di Belanda pada pertengahan tahun 2013 (Florahollands', 2016).

Data Direktorat Jenderal Hortikultura tahun 2014 menunjukkan bahwa volume benih lili yang masuk ke Indonesia berjumlah 2.252.176 buah, sedangkan benih keluar berjumlah 12.960.240 buah yang diproduksi oleh PT Tamara Stekindo di Sumatera. Benih yang masuk dalam bentuk umbi produksi yang sudah siap untuk berbunga, sedangkan bentuk yang diekspor adalah umbi mikro. Dari data nampak bahwa kebutuhan benih lili sangat besar dan belum dapat dipenuhi oleh produksi dalam negeri.

Tuntutan akan kebutuhan bunga potong bunga lili semakin meningkat tetapi kebutuhan tersebut belum dapat dipenuhi oleh para produsen bunga potong di Indonesia. Masalah yang dihadapi dalam budidaya tanaman lili yaitu persediaan bibit yang masih kurang dan adanya penyakit yang disebabkan oleh virus, bakteri dan jamur.

Kultur jaringan merupakan teknik memperbanyak tanaman dengan menggunakan cara isolasi salah satu bagian tanaman seperti daun dan mata tunas untuk menumbuhkan bagian-bagian tersebut ke dalam media buatan secara aseptik yang kaya akan nutrisi dan zat pengatur tumbuh dalam wadah tertutup yang dapat tembus cahaya sehingga bagian-bagian tanaman tersebut dapat beregenerasi menjadi sebuah tanaman lengkap. Metode kultur jaringan merupakan suatu cara menanggulangi kepunahan suatu spesies tanaman.

Keberhasilan menumbuhkan bibit lili putih pada kondisi *in vitro* sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti penggunaan media kultur yang sesuai, pemberian zat pengatur tumbuh (ZPT) dan bahan organik yang tepat serta proses aklimatisasi yang baik. Media kultur berfungsi sebagai penyuplai hara makro dan mikro yang dibutuhkan oleh tanaman. Jenis media dan ZPT merupakan faktor yang menentukan keberhasilan multiplikasi planlet. Pemberian ZPT berperan pada proses fisiologis tanaman untuk merangsang pertumbuhan vegetatif ke arah yang diinginkan (Wattimena, 1992).

Jenis ZPT yang digunakan adalah NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) dan BAP (*6-Benzyl Amino Purine*). NAA pada konsentrasi tertentu berfungsi sebagai inisiasi akar dan pertumbuhan batang tanaman, sedangkan BAP berfungsi untuk memacu inisiasi tunas (Pierik, 1987).

Berdasarkan uraian tersebut penulis tertarik untuk meneliti pengaruh pemberian NAA dan BAP terhadap perbanyakan tunas mikro bunga lili putih (*Lilium Longiflorum* Thunb. var. Liani).

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian NAA dan BAP serta interaksinya terhadap perbanyakan tunas mikro lili putih (*Lilium longiflorum* Thunb. var. liani).

1.3 Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian ini adalah:

1. Adanya pengaruh pemberian NAA (*Naphatalene Acetic Acid*) terhadap perbanyakan tunas mikro lili putih (*Lilium longiflorum* Thunb. var. liani).
2. Adanya pengaruh pemberian BAP (*6-Benzyl Amino Purine*) terhadap perbanyakan tunas mikro lili putih (*Lilium longiflorum* Thunb. var. liani).
3. Adanya pengaruh interaksi antara NAA (*Naphatalene Acetic Acid*) dan BAP (*6-Benzyl Amino Purine*) terhadap perbanyakan tunas mikro lili putih (*Lilium longiflorum* Thunb. var. liani).

1.4 Kegunaan Penelitian

Kegunaan penelitian ini adalah:

1. Untuk memperoleh kombinasi optimum dari pemberian NAA dan BAP terhadap perbanyakan tunas mikro lili putih (*Lilium longiflorum* Thunb. var. liani).
2. Untuk menghasilkan tunas tanaman lili putih dalam jumlah yang banyak dan dalam waktu yang singkat dengan pemberian NAA dan BAP.
3. Sebagai bahan penyusun skripsi untuk memenuhi persyaratan dalam menempuh ujian sarjana pada Fakultas Pertanian Universitas HKBP Nommensen Medan.
4. Sebagai bahan informasi bagi berbagai pihak yang terkait di dalam usaha budidaya tanaman lili putih.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Taksonomi Lili Putih (*Lilium longiflorum* Thunb. var. *liani*)

Lili putih merupakan tanaman yang dikenal sebagai bunga potong dan sering digunakan dalam rangkaian bunga maupun dekorasi ruangan. Lili dapat tumbuh secara optimal pada dataran tinggi 400-1500 m diatas permukaan laut.

Klasifikasi botani tanaman lili ini adalah:

Divisi	: Spermatophyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledonae
Ordo	: Liliales
Famili	: Liliaceae
Genus	: Lilium
Spesies	: Lilium Longiflorum

Nama umum tanaman ini adalah *Easter Lily*, *Trumpet Lily*, atau *White Lily* berasal dari Okinawa (Jepang), Amami, dan Erabu (Dale and Wilkins, 2005).

2.2 Morfologi Lili Putih

2.2.1 Akar

Setiap jenis tanaman lili dikenal tiga jenis akar : akar tunggang, akar serabut, dan akar pengisap tanaman.

a. Akar Tunggang

Akar tunggang merupakan akar pertama dari semaian. Akar ini akan cepat menghilang dengan bertambahnya semaian. Akar ini akan diganti dengan akar serabut. Akar pertama ini lebih dikenal dengan nama “akar lembaga” atau radikula.

b. Akar Serabut

Akar-akar serabut yang keluar dari dasar umbi berfungsi khusus untuk menarik semaian yang baru tumbuh yang ada di dekat permukaan tanah agar lebih masuk ke dalam. Sehingga jenis akar ini diberi nama “akar tarik”. Akar ini dari luar tampak mengerut dekat dasar umbi dengan panjang 5-7 cm . Bagian yang mengerut ini, akan tampak membesar dan menggembung.

c. Akar Pengisap makanan atau *Feeding-roots*

Akar pengisap makanan merupakan akar serabut yang tumbuhnya lebih banyak kebawah dari pada kesamping berfungsi untuk mengisap zat-zat makanan dan bentuknya bercabang-cabang.

2.2.2 Umbi

Lili merupakan tanaman berumbi sejati (*bulb*), pada cakram umbi tumbuh organ-organ berbentuk sisik yang tersusun rapi seperti susunan atap genting. Sisik ini berbentuk elips meruncing, dan banyaknya sisik bisa mencapai dua puluh helai pada setiap jenis lili.

Umbi tanaman lili berbentuk cawan yang dikelilingi oleh sisik (*scale*) yang berfungsi sebagai cadangan makanan berisi zat tepung, gula dan protein. Scale menyerupai lembaran yang berdaging tipis dan dapat dipisahkan dengan mudah dan dapat ditumbuhkan menjadi tunas dan tanaman baru (Crocket, 1973). Lili termasuk dalam terna tahunan dengan tinggi 0,5-1,3 m, mempunyai umbi lapis yang besar dengan diameter 5-10 cm. Pada ujung umbi ada batang semu dengan tunas samping yang tingginya 9-75 cm dan umbinya berbentuk bulat agak pipih dan berwarna kuning atau putih semu.

2.2.3 Batang

Batang pokoknya berwarna hijau yang tingginya 0,3-1,0 meter.

2.2.4 Daun

Daun duduk berbentuk pita atau lanset, panjang 3-120 cm, lebar 3-18 cm, urat-urat daun sejajar tampak jelas.

2.2.5 Bunga

Saat tanaman berbunga, bagian tanaman yang berada diatas permukaan tanah terdiri dari batang, daun dan bunga, sedangkan bagian tanaman yang terdapat di bawah permukaan tanah terdiri dari akar batang dan akar basal, sisik dalam dan sisik luar serta calon umbi baru pada tengah umbi. Hampir semua jenis lili memiliki petal dan sepal yang berbentuk hampir serupa. Bunga lili memiliki enam benang sari yang terdiri dari *anther* dan *filamen* serta satu putik yang terdiri dari *stigma*, *style* dan *ovary* (Miller, 1992). Bunga tersusun dalam bentuk payung, terdiri atas 10 sampai 40 bunga yang berwarna putih, dan berbentuk corong. Lili putih memiliki bunga putih yang indah dan aroma lembut dan dihargai diseluruh dunia sebagai tanaman hias yang menarik (Munafu, 2011).

Bunga lili tersusun atas perhiasan bunga yang terdiri makhota dan kelopak bunga. Makhota dan kelopak bunga lili tidak dapat dibedakan, maka dari itu lebih lazim disebut sebagai tenda bunga dan organ reproduksi yaitu pistil dan stamen. Pistil merupakan bagian fertil disebut bakal buah atau ovarium, bagian tengah yang steril berbentuk seperti pita panjang seperti tangkai disebut tangkai putik atau stilus dan paling ujung dengan bentuk membulat dengan ukuran lebih besar seperti kepala putik atau stigma. Putik tersusun atas stigma dan stilus. Ovarium memiliki ruang ovarium (lokulimentum) dengan dua atau lebih ovula (bakal biji) (Johri, 1984). Beberapa

varietas impor dari jenis ini adalah “Eximum” atau bermuda lili yang bunganya banyak (Botke, 1942).

2.2.6 Biji

Buahnya berupa buah kotak yang mempunyai kulit tipis, bentuknya bulat telur terbalik, merekah menjadi dua rongga bila masak, berbiji 1-5. Bijinya besar-besar, bentuknya bundar gepeng dan kulit bijinya berlapis lender (Wijayakusuma, 2000).

Lili berdasarkan tipe perkecambahannya dikelompokkan menjadi dua yaitu epigeal dan hipogeal. Biji epigeal berkecambah segera setelah disebar tanpa melalui dormansi. Biji hipogeal perkecambahannya dikendalikan dormansi, yang hanya dapat dipatahkan dengan perlakuan dingin. Dormansi sering diinduksi ulang setelah bulblet utama terbentuk dan periode dingin yang lain diperlukan untuk perkembangan tanaman selanjutnya (Pekkalpekonen, 2005).

2.3 Kultur Jaringan Tanaman Lili

Kultur jaringan (tissue culture) adalah suatu teknik mengisolasi bagian-bagian tanaman (sel, sekelompok sel, jaringan, organ, protoplasma, tepung sari, ovarium dan sebagainya), ditumbuhkan secara tersendiri, dipacu untuk memperbanyak diri, akhirnya diregenerasikan kembali menjadi tanaman lengkap yang mempunyai sifat sama seperti induknya dalam suatu lingkungan yang aseptik (bebas hama dan penyakit). Selanjutnya teknik ini juga disebut kultur in vitro (*in vitro culture*) yang artinya kultur di dalam wadah gelas (Wattimena dkk, 1992). Dasar pengembangan kultur jaringan adalah totipotensi. Totipotensi merupakan potensi suatu sel untuk dapat tumbuh dan berkembang menjadi tanaman yang lengkap. Setiap sel akan beregenerasi menjadi tanaman yang lengkap dan utuh apabila ditempatkan pada kondisi yang sesuai (Kumar dkk, 2011).

Tahapan kultur jaringan meliputi inisiasi, multiplikasi, perpanjangan dan induksi akar (pengakaran), dan aklimatisasi. Kegiatan inisiasi meliputi persiapan eksplan, sterilisasi eksplan hingga mendapatkan eksplan yang bebas dari mikroorganisme kontaminan. Multiplikasi merupakan tahap perbanyakkan eksplan dengan sub kultur (pemindahan eksplan dalam media baru yang berisi Zat Pengatur Tumbuh (ZPT)) secara berulang-ulang untuk mempertahankan stok bahan tanaman (eksplan). Pengakaran merupakan kegiatan terakhir sebelum planlet dipindahkan ke kondisi luar. Aklimatisasi ialah proses pemindahan/pengadaptasian planlet dari kondisi *in vitro* ke kondisi luar/lapangan (Kumar dkk, 2011).

Penelitian perbanyakkan cepat tanaman lili secara kultur jaringan telah banyak dipublikasikan. Balai Penelitian Tanaman Hias Cianjur berhasil melakukan perbanyakkan tanaman lili secara kultur jaringan dengan menggunakan eksplan yaitu berupa sisik umbi (*scale*) untuk mengembangkan induksi tunas bunga lili. Media dasar yang digunakan pada penelitian ini adalah Murashige dan Skoog (MS) yang diberi sukrosa 30 g/l dan vitamin B (mioinositol 100 mg/l, piridoksin 0,5 mg/l, asam nikotinat 0,5 mg/l + thidiamin 0,1 mg/l) dengan variasi beberapa hormone yang digunakan yaitu Benzyl Adenin (BA), *Thidiazuron* (TDZ), dan *Naphthalene Acetic Acid* (NAA) (Darliah, 2006).

2.4 Zat Pengatur Tumbuh (ZPT)

Zat pengatur tumbuh (ZPT) merupakan hormon sintetis dari luar tubuh tanaman. Zat pengatur tumbuh memiliki fungsi untuk merangsang perkecambahan, pertumbuhan akar, dan tunas. Zat pengatur tumbuh dapat dibagi menjadi beberapa golongan yaitu auksin, sitokinin, giberelin, dan inhibitor. Zat pengatur tumbuh golongan auksin adalah *Indol Asam Asetat* (IAA), *Indol Asam Butirat* (IBA), *Naphthalene Acetic Acid* (NAA), dan 2,4 D Diklorofenoksiasetat (2,4 D). Zat pengatur tumbuh yang termasuk golongan sitokinin adalah Kinetin, Zeatin, Ribosil,

Benzil Amino Purine (BAP) atau *Benzil Adenin* (BA). Zat pengatur tumbuh golongan giberelin yaitu GA 1, GA 2, GA 3, GA 4, sedangkan ZPT yang termasuk golongan inhibitor adalah fenolik dan asam absisik (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

2.4.1 Auksin

Istilah auksin pertama kali digunakan oleh Frits Went, seorang mahasiswa pasca sarjana di negeri Belanda pada tahun 1928 yang menemukan bahwa suatu senyawa yang belum dapat dicirikan mungkin menyebabkan pembengkokan koleoptil oat ke arah cahaya, fenomena pembengkokan ini disebut fototropisme. Senyawa yang ditemukan Went didapati cukup banyak diujung koleoptil (Salisbury dan Ross, 1992).

Auksin yang ditemukan Went kini diketahui sebagai *asam indolasetat* (IAA) dan beberapa ahli fisiologis masih menyamakan IAA dengan auksin. Namun, tumbuhan mengandung tiga senyawa lain yang strukturnya mirip dengan IAA dan menyebabkan banyak respon yang sama dengan IAA. Auksin yang sering digunakan untuk merangsang pertumbuhan akar dan sebagai bahan aktif yang sering digunakan dalam persiapan holtikultura komersial terutama untuk akar dan batang. Zat pengatur tumbuh auksin ada beberapa jenis yaitu: *Indole Acetic Acid* (IAA), *Naphthalene Acetic Acid* (NAA), dan *asam indole butyric* (IBA).

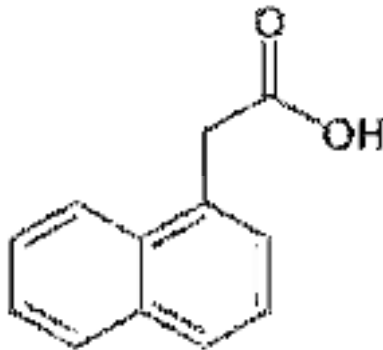
***Naphthalene Acetic Acid* (NAA)**

Auksin banyak digunakan secara luas pada kultur jaringan dalam merangsang pertumbuhan kalus, seperti sel dan organ. Fungsi utama auksin adalah untuk merangsang perpanjangan sel-sel di dalam tunas-tunas muda yang sedang berkembang. Meristem apikal dari suatu tunas adalah tempat utama sintesis auksin (Campbell dan Reece, 2012).

Penambahan NAA pada media menyebabkan sel-sel kalus aktif dalam pembelahan sel, pembesaran sel, menaikkan tekanan osmotik dan meningkatkan sintesis protein. Penambahan

auksin yang lebih stabil misalnya NAA cenderung menyebabkan terjadinya pertumbuhan kalus dari eksplan. Salah satu mekanisme kerja auksin adalah mempengaruhi perpanjangan sel. Auksin mendorong elongasi pada kleoptil dan ruas-ruas tanaman. Elongasi sel terutama terjadi pada arah vertikal dan diikuti dengan pembesaran sel dan peningkatan bobot basah (Wattimena, 1998).

NAA memiliki sifat yang stabil dan tidak mudah teroksidasi oleh enzim (Zaer da Mapes, 1985). Anwar (2007) menambahkan bahwa NAA memiliki sifat yang lebih tahan dan tidak terdegradasi serta lebih murah. *Naphthalene Aceti Acid* (NAA) banyak digunakan sebagai hormon akar dan selang konsentrasi yang mendorong pembesaran sel-sel pada akar adalah sangat rendah.



Gambar 2.1. Struktur Kimia NAA

2.4.2 Sitokinin

Sitokinin adalah salah satu zat pengatur tumbuh tanaman yang berperan dalam pembelahan sel dibagian akar dan tunas. Peranan sitokinin terutama pada pertumbuhan sel dan diferensiasi sel, selain itu juga berperan pada dormansi apikal, pertumbuhan tunas, dan proses penguningan daun. Ada dua jenis sitokinin, yaitu sitokinin tipe adenin, seperti kinetin, zeatin,

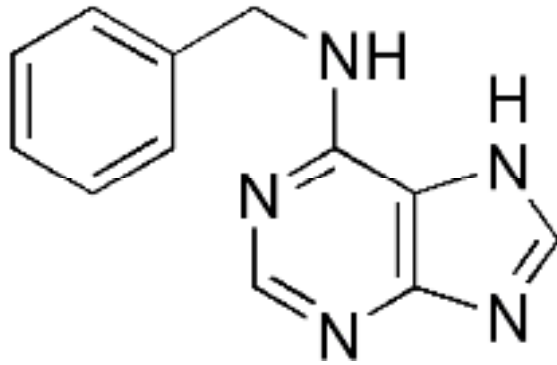
benzyl amino purine, dan juga sitokinin tipe phenylurea, seperti diphenylurea, dan tidiozuron. Sebagian besar sitokinin disintesis di akar. Kambium dan bagian tanaman yang aktif membelah juga mensintesis sitokinin. Peran sitokinin tidak terlepas dari peranan hormon tanaman lainnya, terutama auksin.

Sitokinin yang sering dipakai dalam kultur jaringan adalah BAP dan Kinetin. Apabila ketersediaan sitokinin di dalam medium kultur sangat terbatas maka pembelahan sel pada jaringan yang dikulturkan akan terhambat, tetapi apabila jaringan tersebut dipindahkan pada medium dengan kandungan sitokinin yang memadai maka pembelahan sel akan berlangsung cepat. Selain meningkatkan pembelahan sel dan inisiasi pucuk, sitokinin juga berfungsi dalam kontrol perkecambahan biji, mempengaruhi absisi daun dan transport auksin, memungkinkan bekerjanya giberelin dengan menghilangkan penghambat tumbuh serta menunda penuaan (George dan Sherrington, 2011).

6-Benzyl Amino Purine (BAP)

6-Benzyl Amino Purine (BAP) adalah sitokinin yang paling sering digunakan karena paling efektif untuk merangsang pembentukan tunas, lebih stabil, dan tahan terhadap oksidasi serta paling murah diantara sitokinin lainnya. BAP merupakan golongan sitokinin sintetik yang paling sering digunakan dalam perbanyakan tanaman secara *in vitro*. Hal ini karena BAP mempunyai efektivitas yang cukup tinggi untuk perbanyakan, mudah didapat, dan relatif lebih murah dibandingkan kinetin (Yusnita, 2003).

6-Benzyl Amino Purine (BAP) memiliki rumus bagan $C_{12}H_{11}N_5$ dan titik lebur 230-233°C (Santoso dan Nursandi, 2004). BAP merupakan sitokinin sintesis yang memiliki berat molekul sebesar 225.26 (Alitalia, 2008). Wattimena (1988) menambahkan bahwa BAP merupakan turunan adenin yang disubstitusi pada posisi 6 yang strukturnya serupa dengan kinetin.



Gambar 2.2 Struktur Kimia BAP

BAB III

BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Benih Induk Hortikultura Gedung Johor, Kecamatan Medan Johor, Sumatera Utara. Pelaksanaan penelitian pada bulan Juni sampai Agustus 2020.

3.2 Bahan dan Alat Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: planlet (tunas) bunga lili putih (*Lilium Longiflorum* Thunb. var. liani) yang berasal dari Laboratorium Kultur Jaringan Badan Induk Hortikultura Gedung Johor, media kultur yang digunakan adalah media MS (Murashige dan Skoog, 1962), NAA (*Naphthalene Acetic Acid*), BAP (*6-Benzyl Amino Purine*), fungisida benlate, tween 20, agar-agar, NaOH 1 N, aquades, vitamin, sukrosa, myoinositol, alkohol 70%, sodium hipoklorit 5% (*Clorox* atau *Bayclin*), pH meter atau kertas lakmus, kertas label, kertas aluminium.

Alat-alat yang digunakan adalah: *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), lampu *fluorescence*, botol kultur, Erlenmeyer, pipet skala, gelas ukur, petridis, *scalpel*, gunting, Bunsen, timbangan analitik, *hotplate*, spatula, kertas millimeter, dan pinset.

3.3 Metode Penelitian

Metode penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial yang terdiri dari dua faktor perlakuan, yaitu:

1. Faktor konsentrasi NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) yang disusun dalam tiga taraf yaitu:

$$N_0 = 0 \text{ mg/l}$$

$$N_1 = 0,5 \text{ mg/l}$$

$$N_2 = 1 \text{ mg/l}$$

2. Faktor konsentrasi BAP (*6-Benzyl Amino Purine*) yang disusun dalam tiga taraf yaitu:

$$B_1 = 0,5 \text{ mg/l}$$

$$B_2 = 1 \text{ mg/l}$$

$$B_3 = 1,5 \text{ mg/l}$$

Terdapat 9 kombinasi yaitu:

$$N_0B_1 \quad N_1B_1 \quad N_2B_1$$

$$N_0B_2 \quad N_1B_2 \quad N_2B_2$$

$$N_0B_3 \quad N_1B_3 \quad N_2B_3$$

Jumlah perlakuan = 9 kombinasi

Jumlah ulangan = 3 ulangan

Jumlah tunas/botol = 1 tunas

Jumlah botol per perlakuan = 4 botol

Jumlah sampel yang dijadikan parameter = 3 sampel

Jumlah seluruh botol sebanyak $27 \times 4 = 108$ botol tunas

3.4 Metode Analisis

Model linier aditif yang digunakan untuk RAL faktorial adalah:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Dimana:

Y_{ijk} = Hasil pengamatan dari perlakuan auksin taraf ke-i dan perlakuan sitokinin taraf ke-j pada ulangan ke-k

μ = Nilai tengah

α_i = Pengamatan perlakuan auksin taraf ke-i

β_j = Pengaruh perlakuan sitokinin taraf ke-j

$\alpha\beta_{ij}$ = Pengaruh interaksi ZPT auksin taraf ke-I dan sitokinin taraf ke-j

ε_{ijk} = Pengaruh galat yang diberikan auksin pada taraf ke-I dan sitokinin pada taraf ke-j pada ulangan ke-k

Untuk mengetahui pengaruh dari faktor perlakuan yang diberikan serta interaksinya maka data hasil percobaan dianalisis dengan menggunakan sidik ragam. Hasil sidik ragam yang nyata atau sangat nyata pengaruhnya dilanjutkan dengan menggunakan uji jarak Duncan pada taraf $\alpha = 0,05$ dan $\alpha = 0,01$ untuk membandingkan perlakuan dan kombinasi perlakuan (Malau, 2005)

3.5 Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian meliputi beberapa kegiatan, yaitu:

3.5.1 Pengadaan dan Seleksi Tanaman

Pada penelitian ini, sumber tanaman yang digunakan adalah planlet bunga lili putih (*Lilium Longiflorum* Thunb. var. liani) yang telah dikulturkan dengan ciri planlet yang sudah

memiliki organ planlet lengkap (akar, batang, daun), warna pucuk batang hijau mantap artinya tidak tembus pandang, dan pertumbuhannya kekar.

3.5.2 Sterilisasi Alat dan Ruang

Sterilisasi merupakan teknik membersihkan dan membebaskan suatu benda dari segala kehidupan mikroorganisme (protozoa, fungi, bakteri, dan virus). Botol kultur yang tidak dipakai lagi dan juga botol kultur yang terkontaminasi, harus diautoklaf untuk mencairkan agar dan mematikan mikroorganisme yang masih ada. Wadah kultur kemudian dibersihkan atau dikosongkan, dicuci atau direndam dalam deterjen selama satu malam. Alat-alat gelas kemudian digosok dengan sikat dan dicuci 3 kali dengan air mengalir lalu 3 kali dengan aquades. Wadah atau botol kultur yang baru atau alat gelas yang baru lainnya yang digunakan dalam laboratorium kultur jaringan harus dicuci bersih sebelum digunakan. Alat gelas sebaiknya disimpan pada tempat yang bersih setelah dikering ovenkan.

Untuk sterilisasi panas kering (dalam oven), peralatan seperti scalpel, gunting, petridish, beaker glass, dan lain-lain, dapat dibungkus dengan kertas *aluminium foil* terlebih dahulu sebelum diautoklaf. Kertas yang diautoklaf kemudian dikeringkan dengan cara meletakkan pada oven dengan suhu 60-70 °C atau di dalam *laminar air flow cabinet* sebelum digunakan (Pandiangan, 2016).

Ruang kultur jaringan digunakan untuk melakukan kegiatan inisiasi bahan tanam, sehingga sangat dijaga kesterilan ruang kultur jaringan agar tidak terjadi kontaminasi pada bahan tanam yang akan dikulturkan. Ruang kultur jaringan dilengkapi dengan AC untuk mendapatkan suhu ruangan yang dikehendaki yaitu 16°C. *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC) disemprot dengan alkohol 70% dan alat-alat yang dimasukkan ke dalam LAFC juga harus disemprot dengan alkohol 70%. Ruang tanam disterilisasi dengan sinar UV selama 1 jam sebelum LAFC

digunakan. Ketika LAFC digunakan maka sinar UV harus dimatikan dan blower dihidupkan (Fitrianti, 2006 dalam Lizawati 2012).

Sterilisasi LAFC sangat penting dilakukan sebelum kegiatan penanaman planlet dilakukan. Sebelum melakukan penanaman planlet lampu UV dinyalakan selama 30 menit. Bertujuan untuk mematikan kontaminan yang ada pada ruang kultur jaringan tersebut. Ruangan dapat dimasuki kembali setelah 30 menit lampu UV dimatikan, hal ini dilakukan untuk menjaga hal yang tidak diinginkan pada petugas atau peneliti yang akan melakukan kegiatan penanaman bahan tanam pada ruang kultur jaringan karena sinar UV sangat berbahaya bagi kesehatan jika dimasuki pada saat lampu UV masih menyala.

3.5.3 Pembuatan Media

Media kultur yang dibuat adalah menurut formula Murashige dan Skoog. Tahap pertama dalam pembuatan media adalah membuat larutan stok. Larutan stok adalah larutan bahan media yang dibuat dalam jumlah atau volume besar. Pembuatan larutan stok bertujuan untuk menghemat pekerjaan menimbang yang berulang-ulang setiap kali membuat media. Larutan stok disimpan di tempat yang gelap dan bertemperatur rendah. Pembuatan larutan stok bahan kimia terdiri dari hara makro dengan pembesaran 10x, hara mikro dengan pembesaran 100x, larutan vitamin, sukrosa, myo-inositol dan agar-agar.

Tahap berikutnya, sukrosa dimasukkan ke dalam gelas beaker yang telah berisi aquades 500 ml, lalu diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer* sebagai pengaduk. Kemudian ditambahkan myo-inositol, dan diaduk hingga larut. Setelah itu dimasukkan unsur hara makro, larutan stok hara mikro, iron dan vitamin. Kemudian larutan ditepatkan menjadi 1000 ml. Keasaman diukur dengan menggunakan pH meter. Nilai pH yang dikehendaki adalah 5,8. Untuk

mengatur pH, yaitu menaikkan dan menurunkan pH, digunakan larutan NaOH 0,1 N dan HCL 0,1 N.

Agar-agar ditambahkan ke dalam Erlenmeyer untuk setiap perlakuan, lalu dipanaskan di atas *hot plate* dengan pengaduk magnetik sampai larutan menjadi kering (semua agar telah larut). Media siap dipindahkan ke dalam botol kultur steril. Kemudian botol tersebut ditutup dengan aluminium foil dan diberi label sesuai perlakuan. Media dalam botol tersebut disterilisasikan di dalam autoklaf dengan tekanan 17,5 selama 30 menit. Selanjutnya media dapat disimpan dalam ruang kultur sebelum digunakan.

3.5.4 Pemberian Zat Pengatur Tumbuh

Penggunaan zat pengatur tumbuh diawali dengan pembuatan stok. ZPT sebanyak yang dibutuhkan dengan konsentrasi stok optimum 100 ml. Zat pengatur tumbuh yang digunakan diberikan terlebih dahulu kedalam botol kultur dengan menggunakan pipet tetes sesuai konsentrasi perlakuan. Kemudian media dimasukkan ke dalam botol yang telah berisi ZPT tersebut dan botol kultur di tutup menggunakan kertas aluminium untuk disterilisasi ke dalam autoklaf.

3.5.5 Sterilisasi *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC)

Sterilisasi *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC) dilakukan dengan menyemprotkan alkohol 70%. Permukaan laminar sebelum mulai bekerja dibersihkan dengan tisu yang sudah dicelupkan alkohol 70%. Laminar yang dilengkapi dengan lampu UV, sebelum digunakan juga dinyalakan selama 1-2 jam untuk mematikan kontaminan yang ada dipermukaan laminar. Hal serupa juga dilakukan setelah selesai melakukan penanaman atau inokulasi. Laminar harus tetap dijaga kebersihannya.

3.5.6 Penanaman Planlet Pada Media Penelitian

Penanaman planlet lili putih dilakukan di LAFC yang telah disterilkan dengan alkohol 70%. Planlet lili putih hasil kultur jaringan diambil menggunakan pinset dan ditanam ke dalam botol media yang sesuai dengan perlakuan. Apabila telah selesai botol-botol media tersebut ditempatkan di dalam rak-rak kultur jaringan.

3.5.7 Pemeliharaan kultur

Botol kultur yang telah berisi planlet tersebut ditempatkan di dalam rak kultur jaringan dan disusun sedemikian rupa pada rak kultur yang suhunya telah diatur, ditempatkan pada kondisi terang dengan penyinaran lampu TL Neon dengan jarak 50 cm dari botol-botol kultur. Untuk pemeliharaan, lingkungan atau sekeliling kultur harus di jaga karena kelembaban di sekeliling kultur dapat mempengaruhi pola perkembangan eksplan tersebut. Temperatur yang dibutuhkan untuk mendapatkan pertumbuhan yang optimum adalah 20-25°C. Ruangan ini harus diusahakan bebas dari bakteri dan cendawan, dimana setiap hari boto-botol eksplan harus disemprot dengan menggunakan alkohol 95% dan rak-rak kultur ditaburi dengan fungisida Benlate.

3.6 Pengamatan Parameter

Pengamatan terhadap perkembangan planlet dimulai dari 1 minggu setelah tanam (MST) sampai dengan 8 MST dan dilakukan sekali dalam seminggu. Parameter yang diamati adalah:

3.6.1 Persentase Jumlah Planlet yang Hidup

Perhitungan jumlah planlet hidup bunga lili putih dengan menggunakan rumus menurut Nurcahyani dkk, (2004).

$$\text{Presentase planlet yang hidup} = \frac{\text{jumlah planlet yang hidup}}{\text{jumlah planlet seluruhnya}} \times 100\%$$

3.6.2 Jumlah Tunas

Jumlah tunas lili putih yang tumbuh dihitung secara manual dengan cara mengamati langsung dari botol kultur, dan dilakukan mulai dari 1 minggu setelah penelitian dimulai sampai 8 MST.

3.6.3 Panjang Daun

Panjang daun diukur mulai dari pangkal daun sampai ujung daun dengan menggunakan penggaris dan dilakukan pada 8 MST.

3.6.4 Jumlah Daun

Pengamatan terhadap jumlah daun dimulai pada 1 minggu setelah tanam sampai pada 8 MST. Dihitung secara manual dengan menghitung jumlah semua daun pada setiap planlet.

3.6.5 Tinggi Planlet

Tinggi planlet diukur dengan menggunakan penggaris, pengukuran dilakukan mulai dari pangkal batang sampai dengan ujung daun terpanjang dan dilakukan pada 8 MST.

3.6.6 Jumlah Akar

Semua akar yang terdapat pada planlet dihitung jumlahnya. Dihitung secara manual dengan menghitung satu persatu jumlah akar pada planlet.