

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 (Sarvadeet *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 tahun 2013 (Floraholland's, 2016).

Data Direktorat Jenderal Hortikultura tahun 2014 menunjukkan bahwa volume benih lili putih 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 putih sangat besar dan belum dapat dipenuhi oleh produksi dalam negeri (Herlina, 2016).

Perbanyakan lili putih pada umumnya dilakukan dengan umbi dengan ukuran keliling kurang lebih 10 – 14 cm. Perbanyakan lili putih dengan umbi mempunyai kekurangan yaitu pertumbuhan memakan waktu yang relatif lama. Tanaman lili putih memerlukan waktu tiga sampai enam bulan untuk dapat tumbuh secara konvensional, karena umbi memiliki masa dormansi untuk dapat tumbuh dan berkembang menjadi tanaman baru kembali, sedangkan permintaan terhadap lili putih makin meningkat (Budiarto dan Hilman, 2007). Oleh karena itu

diperlukan teknik perbanyakan secara massal berdasarkan permintaan pasar yang cenderung meningkat yaitu salah satunya melalui pengembangan teknik kultur jaringan.

Perbanyakan cepat dengan teknik kultur jaringan sangat menjanjikan untuk perbanyakan tanaman. Dengan teknik kultur jaringan diharapkan Indonesia tidak perlu mengimpor benih lili putih dari luar negeri seperti yang terjadi dewasa ini (Marlina, 2009). Keberhasilan kultur *in vitro* tergantung pada beberapa faktor seperti media kultur yang digunakan, kondisi cahaya, konsentrasi dan kombinasi penggunaan zat pengatur tumbuh, sukrosa, tipe tanaman, dan juga bahan lain dalam media (Bong Hee Hanet *al.*, 2005; Pekkalpekonen, 2005). Sterilisasi bahan tanaman juga sangat menentukan keberhasilan kultur *in vitro*, bagian tanaman yang berada di atas tanah lebih mudah dilakukan dibanding bahan tanaman yang berasal dari dalam tanah karena tingkat kontaminasinya akan lebih kecil. Banyak spesies lili putih berhasil diperbanyak secara *in vitro* melalui regenerasi langsung atau melalui pembentukan kalus.

Berbagai eksplan seperti sisik umbi (Amaury *et al.*, 2007) bulbil, pembelahan umbi mikro, daun muda dan bagian-bagian bunga seperti tangkai sari (filamen), tangkai putik (*stylus*), penyangga bunga (*receptacle*), petal, ovari (ovarium), tangkai bunga (*pedicel*) telah berhasil digunakan sebagai eksplan untuk perbanyakan secara *in vitro* (Azadi dan Khui, 2007).

Selain eksplan morfogenesis lili juga sangat bergantung pada media dan zat pengatur tumbuh khususnya sitokinin dan auksin yang digunakan. Penelitian teknik kultur jaringan telah banyak dilaporkan, media dasar yang umumnya digunakan adalah media Murashige dan Skoog yang ditambahkan NAA (Naphthalena Acetic Acid), 2,4-D (2,4-dichlorophenoxy acetic acid) dan BA (6-benzyl adenine) mampu menghasilkan tunas dan embriosomatik (Chang *et al.*, 2000). Menurut George dan Sherrington (1984) penggunaan auksin dalam mikropopagasi yang ditambahkan kedalam media berfungsi untuk perkembangan, pertumbuhan kalus suspensi sel

atau organ (misalnya meristem, tunas atau ujung akar) dan untuk mengatur morfogenesis terutama bersama dengan sitokinin. Sitokinin dapat berinteraksi dengan zat pengatur tumbuh lainnya untuk merangsang perbanyakan sel/tunas dan morfogenesis.

Berdasarkan uraian tersebut penulis tertarik untuk meneliti perbanyakan tanaman lili putih dengan menggunakan sisik umbi lapisnya, sehingga dilakukan penelitian pengaruh pemberian jenis sitokinin dan auksin terhadap pembentukan tunas mikro lili putih (*Lilium longiflorum* Thunb. var. *liani*)

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian sitokinin dan auksin serta interaksinya terhadap pembentukan tunas mikro lili putih (*Lilium longiflorum* Thunb. var. *liani*)

1.3 Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian ini adalah :

1. Diduga ada pengaruh jenis sitokinin terhadap pembentukan tunas mikro lili putih (*Lilium longiflorum* Thunb. var. *liani*)
2. Diduga ada pengaruh konsentrasi auksin terhadap pembentukan tunas mikro lili putih (*Lilium longiflorum* Thunb. var. *liani*)

3. Diduga ada pengaruh interaksi antara jenis sitokinin dan konsentrasi auksin terhadap pembentukan tunas mikro lili putih (*Lilium longiflorum* Thunb. var. *liani*)

1.4 Kegunaan Penelitian

Kegunaan Penelitian ini adalah :

1. Untuk memperoleh kombinasi optimum dari pemberian sitokinin dan auksin terhadap pembentukan tunas mikro lili putih (*Lilium longiflorum* Thunb. var. *liani*)
2. Untuk menghasilkan tunas tanaman lili putih dalam jumlah banyak dan dalam waktu yang singkat dengan pemberian sitokinin dan auksin
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 Tanaman Lili Putih (*Lilium longiflorum* Thunb. var. *liani*)

2.1.1 Taksonomi Lili Putih

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 di atas permukaan laut. Klasifikasi botani tanaman lili adalah dengan divisi spermatophyta, sub divisi angiospermae, kelas monocotyledonae, ordo liliales, famili liliaceae,

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

2.1.2 Morfologi Lili Putih

1. Akar

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

a. Akar tunggang

Akar tunggang merupakan merupakan akar pertama dari semaian. Akar ini akan cepat menghilang dengan bertambah besarnya 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 meng alah bagian tengah dari kulit akar atau *exodermis*. Akibat dari gerak mengerut ini, akar tampak membesar dan menggelembung.

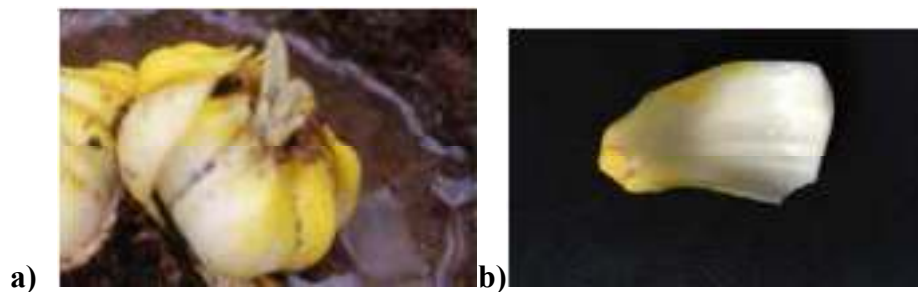
c. Akar pengisap makanan atau *Feeding-roots*

Akar pengisap makanan merupakan akar serabut yang tumbuhnya lebih banyak ke bawah daripada ke samping berfungsi untuk mengisap zat – zat makanan dan bentuknya bercabang – cabang.

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. Gambar umbi dan sisik umbi lili putih dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 a) Umbi Bunga Lili dan b) Sisik Umbi Lili Putih (Herlina, 2016)

3. Batang

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

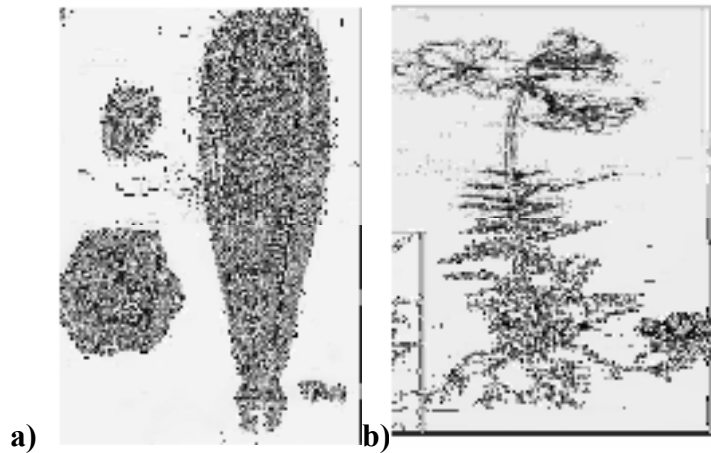
4. Daun

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

5. Bunga

Saat tanaman berbunga, bagian tanaman yang berada di atas 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 (Munaf, 2011).

Bunga lili tersusun atas perhiasan bunga yang terdiri dari mahkota dan kelopak bunga. Mahkota 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 dari bunga pada tumbuhan berbiji yang tersusun atas 3 bagian yaitu bagian basal yang 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 disebut 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 lili putih "Eximum" atau bermuda lili yang bunganya banyak (Botke, 1942). Gambar struktur bunga lili putih dapat dilihat pada gambar 2.2.



Gambar 2.2 Struktur Bunga Lili Putih (Pekkalpekonen, 2005)

- a) Bagian irisan melintang dan longitudinal polong buah yang mengandung biji
- b) Bagian bunga dan tangkai bunga lili, tunas adventif dan axilar/bulbil (tanda panah).

6. Biji

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

Spesies lili berdasarkan tipe perkecambahannya dikelompokkan menjadi dua yaitu epigeal dan hipogeal. Biji epigeal berkecambah segera setelah disebar tanpa melalui dormansi. Biji hipogeal perkecambahannya dikendalikan oleh 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).

2.2 Kultur Jaringan Tanaman Lili

Kultur jaringan adalah suatu metode untuk mengisolasi bagian dari tumbuhan seperti protoplasma, sel, sekelompok sel, jaringan, dan organ, serta menumbuhkannya dalam kondisi aseptik, sehingga bagian – bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tumbuhan lengkap kembali. Perbanyakan mikro beberapa tumbuhan yang biasa diperbanyak secara vegetatif, merupakan contoh aspek yang menarik dari penerapan kultur jaringan. Perbanyakan mikro secara umum dapat diartikan sebagai usaha menumbuhkan bagian tumbuhan dalam media aseptik, memperbanyaknya hingga menghasilkan bakal tumbuhan sempurna. Tujuan pokok penerapan perbanyakan mikro adalah produksi tumbuhan dalam jumlah besar pada waktu singkat terutama misalnya varietas - varietas unggul (Pandiangan, 2016).

Pemanfaatan teknik kultur jaringan dalam bidang agronomi antara lain : membantu perbanyakan vegetatif tanaman dalam rangka penyediaan bibit dari induk superior, membersihkan bahan tanaman/bibit dari virus yang ada dalam tubuh induk, membantu program pemuliaan tanaman untuk menghasilkan tanaman yang lebih baik, membantu proses konservasi dan preservasi plasma nuftah tanaman, dan produksi persenyawaan kimia untuk keperluan farmasi dan pewarna untuk industri makanan dan kosmetik didalam kultur sel (Gunawan, 1987).

Penelitian perbanyakan cepat tanaman lili secara kultur jaringan telah banyak dipublikasikan. Balai Penelitian Tanaman Hias Cianjur berhasil melakukan perbanyakan 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

hormon yang digunakan yaitu Benzyl Adenin (BA), *Thidiazuron*(TDZ)dan *Naphtalena acetic acid* (NAA) (Darliah,2006).

Pada penelitian yang dilakukan Kurniati *dkk.*,(2012) berhasil mempercepat waktu inisiasi kalus tanaman lili dengan melakukan induksi kalus dan *bulblet* serta regenerasi dari tangkai sari bunga (filamen). Media dasar yang digunakan Murashige Skoog (MS) dan kombinasi zat pengatur tumbuh yang digunakan yaitu TDZ, kinetin, serta 2.4-D. Pada Penelitian yang dilakukan Marlina (2009) berhasil menginisiasi pembesaran sel dan pembentukan kalus tanaman lili dengan menggunakan eksplan umbi sisik lili. Media yang digunakan Murashige & Skoog (MS) dan kombinasi zat pengatur tumbuh yang digunakan yaitu pikloram, kinetin, zeatin, 2,4-D, dan *Thidiazuron*(TDZ).

2.3 Zat Pengatur Tumbuh (ZPT)

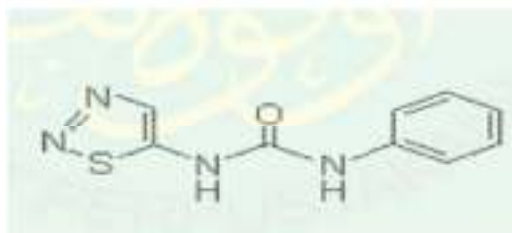
Zat pengatur tumbuh (ZPT) merupakan senyawa organik bukan hara, yang dalam jumlah sedikit dapat mendukung, menghambat, dan dapat mengubah proses fisiologis tumbuhan. Fungsi ZPT tersebut adalah untuk merangsang pertumbuhan morfogenesis dalam kultur sel, jaringan, dan organ (Gunawan, 1987).

2.3.1 Sitokinin

Sitokinin merupakan senyawa organik yang menyebabkan pembelahan sel yang dikenal dengan proses sitokinesis. Menurut Wattimenad*dkk.*, (1992), sitokinin mempengaruhi berbagai proses fisiologis di dalam tanaman terutama mendorong pembelahan sel, selain itu sitokinin juga berpengaruh dalam ploriferasi tunas ketiak, penghambatan pertumbuhan akar dan induksi umbi mikro pada kentang.

1. *Thidiazuron* (TDZ)

Sitokinin yang biasa digunakan adalah kinetin, zeatin, *N*⁶-2-Isopentanyl Adenin (2iP), 6-Benzyl Amino Purin (BAP), PBA, 2C 1-4 PU, 2.6-CI-4 dan *Thidiazuron*(TDZ) (Gunawan, 1987). Struktur kimia TDZ disajikan pada Gambar 2.3



Gambar 2.3 Struktur Kimia *Thidiazuron* (Yusnita,2003)

Disamping sitokinin BA atau kinetin, penggunaan *Thidiazuron* dapat pula meningkatkan kemampuan multiplikasi tunas. *Thidiazuron* dapat menginduksi pembentukan tunas adventif dan proliferasi tunas aksilar. Diduga *Thidiazuron* mendorong terjadinya perubahan sitokinin ribonukleotida menjadi ribonukleosida yang secara biologis lebih aktif (Capella and Sumrall, 1993). *Thidiazuron* merupakan senyawa organik yang banyak digunakan dalam perbanyakan *in vitro* karena aktivitasnya menyerupai sitokinin (Pierik,1988).

Thidiazuron berpotensi memacu frekuensi regenerasi pada kacang tanah (*Arachis hipogaeae*) secara *in vitro*, dan memacu pembentukan tunas adventif pada beberapa jenis tumbuhan karena dapat menginduksi proses pembelahan sel secara cepat pada kumpulan sel meristem sehingga terbentuk primordia tunas. Senyawa organik tersebut merupakan derivat urea yang tidak mengandung rantai purin yang umumnya dimiliki oleh sitokinin (George dan Sherrington, 1984).

2. BAP (6-Benzyl Amino Purine)

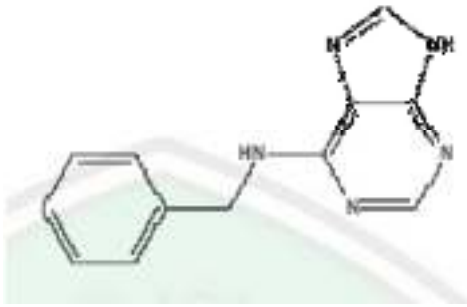
Zat pengatur tumbuh BAP (6-Benzyl Amino Purine) merupakan ZPT yang mendorong pembelahan sel (sitokinesis)(Pranata, 2004). Ahli biologi tumbuhan juga menemukan bahwa

sitokinin dapat meningkatkan pembelahan, pertumbuhan dan perkembangan kultur sel tanaman. Sitokinin juga menunda penuaan daun, bunga dan buah dengan cara mengontrol dengan baik proses kemunduran yang menyebabkan kematian sel - sel tanaman. Penuaan pada daun melibatkan penguraian pada klorofil dan protein - protein, kemudian produk tersebut diangkut oleh floem ke jaringan meristem atau bagian lain dari tanaman yang membutuhkannya (Gunawan,1987).

Zat pengatur tumbuh BAP dapat memacu terjadinya proses fotosintesis karena pengaruhnya dalam memacu peningkatan produksi klorofil. Dengan peningkatan produksi klorofil pada tanaman *Argyreaiahookeri* mengakibatkan proses fotosintesis juga meningkat sehingga akan terbentuk senyawa organik seperti karbohidrat untuk proses pembentukan daun (Yusnita, 2003).

Jenis sitokinin yang paling sering dipakai adalah BAP (*6-Benzyl Amino Purine*). BAP merupakan golongan sitokinin aktif yang bila diberikan pada tunas pucuk akan mendorong proliferasi tunas yaitu keluarnya tunas lebih dari satu. Selain itu BAP juga dapat digunakan sebagai komposisi media kultur dalam hal induksi kalus (Yusnita, 2003).

Zat pengatur tumbuh BAP mempunyai struktur yang sama dengan kinetin, akan tetapi lebih efektif bila dibandingkan dengan kinetin, karena memiliki gugus *benzyl*. Umumnya tanaman memiliki respon yang baik dengan BAP, efektif untuk memproduksi tunas *in vitro* maupun induksi kalus (Ramasami,2005). Struktur BAP disajikan pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Struktur Kimia BAP (*6-Benzyl Amino Purine*) (George dan Sherrington,1984)

Zat pengatur tumbuh BAP merupakan ZPT yang tergolong sitokinin sintetik yang memiliki berat molekul sebesar 225,26 dengan rumus molekul $C_{12}H_{11}N_5$ yang dalam penggunaannya dipengaruhi oleh ZPT lainnya. Media kultur yang berisi 1 mg/l BAP menghasilkan induksi dan multiplikasi tunas terbaik pada perbanyakan dan perkecambahan gaharu secara *in vitro* (Wattimenadkk.,1992).

2.3.2 Auksin

Penggunaan auksin dalam kultur jaringan digunakan untuk pembelahan sel dan deferensiasi akar. Auksin sangat berpengaruh terhadap ekspresi gen di berbagai jaringan dan menyebabkan perubahan fisiologi juga morfologi pada tanaman. Auksin juga menyebabkan perpanjangan batang, *internode*, *tropism*, apikal dominan, absisi, dan perakaran (Abbas, 2011).

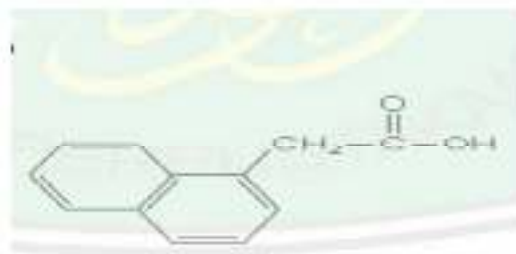
Auksin merupakan istilah umum untuk substansi pertumbuhan yang khususnya merangsang perpanjangan sel, tetapi auksin juga menyebabkan suatu kisaran respon pertumbuhan yang agak berbeda- beda. Sejumlah substansi alami menunjukkan aktivitas auksin, tetapi yang dominan yang pertama kali ditemukan dan diidentifikasi ialah *Asam Indole Asetat* (IAA). *Asam Indole Asetat* (IAA) terdapat di akar, pada konsentrasi yang hampir sama dengan di bagian tumbuhan lainnya. Sejak pertama kali dikemukakan pada tahun 1930-an, pemberian auksin memacu pemanjangan potongan akar atau bahkan akar utuh pada banyak spesies tapi

hanya pada konsentrasi yang sangat rendah tergantung spesies dan umur tanaman. Pada konsentrasi yang tinggi, pemberian auksin dapat menghambat pertumbuhan akar (Gardner *et al.*, 1991).

Auksin adalah salah satu hormon tumbuhan yang tidak lepas dari proses pertumbuhan dan perkembangan suatu tanaman. Senyawa ini dicirikan oleh kemampuannya dalam mendukung terjadinya pemanjangan sel pada pucuk (Salisbury dan Ross, 1995). Auksin membantu meningkatkan pertumbuhan akar dikarenakan dapat menginduksi sekresi ion H^+ keluar melalui dinding sel, pengasaman dinding sel menyebabkan K^+ diambil dan pengambilan ini mengurangi potensial air dalam sel. Akibatnya air masuk ke dalam sel juga mendorong enzim selulase memotong-motong ikatan selulosa pada dinding primer hingga dinding elastis dan sel membesar (Gunawan, 1987).

NAA (*Napthalena Acetic Acid*)

Salah satu jenis auksin sintetik yang sering digunakan adalah NAA (*Napthalena Acetic Acid*) karena NAA mempunyai sifat kimia lebih stabil daripada IAA (Fitriani, 2008). Zat pengatur tumbuh NAA secara luas digunakan untuk perakaran dan interaksi antara auksin dan sitokinin untuk poliferasi tunas. Struktur NAA disajikan pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Struktur Kimia *Napthalena Acetic Acid* (George and Sherrington, 2001)

Auksin banyak digunakan secara luas pada kultur jaringan dalam merangsang pertumbuhan kalus, suspensi sel dan organ (Gunawan,1987). Bentuk bentuk auksin yang biasa ditambahkan ke dalam media kultur adalah 2.4 D (*2.4 DiclorophenoxyAcetic Acid*), IBA (*Indole Butyric Acid*), NAA (*Naphthalena Acetic Acid*) dan IAA (*Indole-3-Acetic Acid*). Auksin yang secara alami terdapat dalam tumbuhan adalah IAA.

Menurut Wattimena *dkk.*,(1992), setelah ditemukan IAA sebagai salah satu fitohormon yang penting, maka disintesis senyawa-senyawa serupa dan diuji keaktifan biologis dari senyawa-senyawa tersebut. Zat pengatur tumbuh NAA dan 2.4-D merupakan senyawa tanpa ciri indol tetapi mempunyai aktivitas biologis seperti *Asam Indole Asetat* (IAA). Selain itu NAA banyak digunakan sebagai hormon akar dan selang konsentrasi yang mendorong pembesaran sel-sel pada akar dan juga termasuk IAA sintetis yang sering digunakan karena memiliki sifat yang lebih tahan, tidak terdegradasi dan lebih murah. Zat pengatur tumbuh ini memiliki berat molekul 186.21 dengan rumus molekul $C_{12}H_{10}O_2$ (Alitalia, 2008).

BAB III

BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Badan Induk Hortikultura Gedung Johor, Kecamatan Medan Johor, Sumatera Utara. Pelaksanaan penelitian dilakukan pada bulan Februari sampai Mei 2019.

3.2 Bahan dan Alat Penelitian

Bahan utama yang digunakan adalah tanaman lili putih (*Lilium longiflorum* Thunb. var. *liani*) (Lampiran 1). Media kultur yang digunakan adalah media Murashige dan Skoog (Lampiran 27), *Thidiazuron* (TDZ), *Benzyl Amino Purine* (BAP), *Napthalena Acetic Acid* (NAA), fungisida benlate, *tween* 20, agar - agar, NaOH 1 N, HCl 1 N, akuades, vitamin, sukrosa, myo-inositol, alkohol 70%, 80%, dan 95%, sertasodium hipoklorit 5%, klorox, kertas label, dan *aluminium foil*.

Alat – alat yang digunakan adalah : *autoklaf*, *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFB), lampu *flourescent*, botol kultur, erlenmeyer, pipet skala, gelas ukur, petridis, *scalpel*, gunting, bunsen, timbangan analitik, *hotplate*, spatula, lemari es, pinset, oven, dan pH meter.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial yang terdiri dari dua faktor , yaitu :

1. Faktor jenis sitokinin yaitu :

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

$B_2 = \text{Thidiazuron } 0,5 \text{ mg/l}$

2. Faktor NAA dengan 3 taraf konsentrasi yaitu :

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

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

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

Dengan demikian diperoleh kombinasi perlakuan sebanyak $2 \times 3 = 6$ kombinasi yaitu : B_1

$N_0, B_1, N_1, B_1, N_2, B_2, N_0, B_2, N_1, B_2, N_2$

Jumlah perlakuan sebanyak 6 kombinasi, jumlah ulangan sebanyak 3, jumlah eksplan per botol sebanyak 1 eksplan, jumlah botol per kombinasi 5 botol kultur, jumlah sampel yang dijadikan parameter 3 sampel botol kultur, jumlah seluruh botol sebanyak $18 \times 5 = 90$ botol kultur.

3.4 Metode Analisis

Metode linier aditif yang digunakan untuk RAL Faktorial adalah :

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Dimana :

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

μ = Nilai tengah

α_i = Pengaruh perlakuan sitokinin jenis ke-i

β_j = Pengaruh perlakuan konsentrasi NAA taraf ke-j

$\alpha\beta_{ij}$ = Pengaruh interaksi dari perlakuan sitokinin jenis ke - i dan NAA taraf konsentrasi ke - j

ϵ_{ijk} = Pengaruh galat pada satuan percobaan yang diberi sitokinin jenis ke - i dan NAA taraf konsentrasi 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 sisik umbi Lili putih (*Lilium longiflorum* Thunb. var. *liani*). Sisik ini berbentuk elips meruncing. Sisik umbi lili putih yang digunakan untuk penelitian harus sisik berasal dari indukan yang sehat, berasal dari asal usul indukan yang jelas, memiliki riwayat hasil produksi yang baik dan yang digunakan adalah sisik umbi yang masih memiliki jaringan muda yang memiliki bagian meristematik yang masih aktif membelah. Sisik umbi Lili putih (*Lilium longiflorum* Thunb. var. *liani*) yang digunakan diperoleh dari kebun tanaman hias Pelawi, Berastagi, Sumatera Utara.

3.5.2 Sterilisasi Alat dan Ruang Kultur

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 detergen selama semalam. Alat-alat gelas kemudian digosok dengan sikat dan dicuci 3 kali dengan air mengalir lalu 3 kali dengan akuades. Wadah atau botol kultur yang baru atau alat gelas baru lainnya yang digunakan dalam laboratorium kultur jaringan harus dicuci bersih sebelum digunakan. Alat gelas sebaiknya disimpan pada tempat yang bersih setelah dikeringkan dalam oven.

Botol kultur biasanya kecil potensinya sebagai penyebab kontaminasi, karena selalu diautoklaf dengan media. Alat gelas lain dapat disterilisasi dengan beberapa cara, misalnya ekspos ke radiasi UV, penggunaan larutan desinfektan atau lebih mudah dengan mengautoklaf atau dengan pemanasan dalam oven pada 180⁰ C selama minimal 3 jam. Alat-alat plastik seperti *polypropylene* atau *polycarbonate* harus disterilisasi dengan autoklaf karena mereka tidak tahan panas kering pada 180⁰ C. Wadah plastik dapat digunakan berulang kali, karena mereka tahan diautoklaf berulang kali tapi akhirnya menjadi sedikit mengerut.

Untuk sterilisasi panas kering (dalam oven), peralatan seperti scalpel, gunting dan forsep, petridish, beaker glass,dll, dapat dibungkus dengan kertas atau *aluminium foil* terlebih dahulu sebelum diautoklaf. Kertas yang diautoklaf kemudian dikeringkan dengan cara meletakkan pada oven dengan suhu 60-70⁰ C atau di dalam *laminar air flow cabinet* sebelum digunakan (Pandiangan,2016).

Sterilisasi ruangan dilakukan dengan menyemprot ruangan dengan alkohol 95%, sedangkan sterilisasi lantai dengan pembersih lantai kemudian ruangan ditutup rapat selama 12 jam. Selama 12 jam tersebut orang dilarang memasuki ruangan karena berbahaya bagi kesehatan.

3.5.3 Pembuatan Media

Media kultur yang dibuat adalah menurut formula Murashige dan Skoog (MS). Komponen formula Murashige dan Skoog (MS) disajikan pada Lampiran 27. Pembuatan media dilakukan dengan pembuatan larutan stok terlebih dahulu untuk memudahkan pada pembuatan media. 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 gelap dan bertemperatur rendah. Langkah dalam pembuatan media dan larutan stok disajikan pada Lampiran 28.

3.5.4 Sterilisasi Eksplan

Eksplan sisik umbi lili dibersihkan dari kotoran lalu sisik umbi dipisah satu persatu, dicuci dengan detergen, dan dibilas dengan air mengalir. Sisik umbi lalu direndam dalam larutan fungisida dengan takaran 2 g/l air bersih atau dalam botol kultur sebanyak 300 ml/ botol kultur, eksplan sisik umbi lili direndam selama 30 menit di dalam larutan tersebut lalu dicuci bersih menggunakan akuades. Kemudian eksplan sisik umbi lili direndam kembali di dalam alkohol 95% diaduk perlahan selama beberapa detik dan kembali cuci dengan akuades, kemudian eksplan sisik umbi lili kembali direndam dalam larutan klorox 5% selama 5 menit, larutan klorox tersebut terdiri dari 15 ml klorox + 285 ml akuades + 3 tetes tween lalu dibilas dengan akuades sebanyak tiga kali. Selanjutnya, eksplan sisik umbi lili kembali direndam dalam larutan klorox 10% selama 10 menit, larutan klorox tersebut terdiri dari 20 ml klorox + 180 ml akuades + 2 tetes tween lalu dibilas dengan akuades sebanyak tiga kali. Eksplan lalu direndam dan dicampur dalam klorox 20% selama 10 menit larutan klorox tersebut terdiri dari 40 ml klorox + 160 ml akuades + 1 tetes tween. Terakhir eksplan dibilas dengan akuades steril lima kali masing – masing selama 5 menit yang kemudian setelah disterilkan sisik umbi di kikis bagian kanan, kiri, ujung dan pangkalnya pada cawan petri dan segera ditanam pada masing – masing media perlakuan.

3.5.5 Sterilisasi *Laminar Air Flow Cabinet* (L AFC)

Sterilisasi *Laminar Air Flow Cabinet* (L AFC) dilakukan dengan cara menyemprotnya dengan alkohol 70% kemudian dibiarkan terlebih dahulu sekitar 10 menit, setelah itu lampu UV (*Ultra Violet*) berwarna biru dapat dihidupkan selama 30-60 menit.

3.5.6 Penanaman Eksplan

Penanaman eksplan dilakukan di *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC) yang telah disterilkan dengan alkohol 70%. Eksplan steril diperlakukan sebelum penanaman pada cawan petridish. Botol media diambil lalu didekatkan dengan api bunsen, kemudian eksplan ditanam ke dalam botol media sesuai perlakuan sebelum penanaman yaitu di kikis bagian kanan, kiri, ujung dan pangkalnya. Apabila telah selesai, botol - botol media tersebut ditempatkan di dalam rak - rak kultur jaringan.

3.5.7 Pemeliharaan Kultur

Botol media yang telah ditanami sisik umbi kemudian disimpan pada rak kultur yang diberi cahaya dengan intensitas 1000 lux selama 16 jam dalam sehari. Rak kemudian ditempatkan dalam ruang kultur dengan suhu 20-22^o C. Kondisi penyinaran lampu *flourescent* adalah dengan jarak 50 cm dari botol - botol kultur. Untuk pemeliharaan kelembapan, lingkungannya harus mendekati 100% karena kelembapan sekeliling kultur dapat mempengaruhi pola perkembangan eksplan tersebut. Ruang yang digunakan harus diusahakan bebas dari bakteri dan cendawan, dimana setiap hari botol - botol eksplan harus disemprot dengan menggunakan alkohol 95%.

3.6 Pengamatan Parameter

Pengamatan terhadap eksplan dimulai dari 1 minggu setelah tanam (MST) sampai dengan 10 minggu setelah tanam (MST). Parameter yang diamati adalah :

3.6.1 Persentase Eksplan yang Hidup

Pengamatan persentase eksplan yang hidup dilakukan selama 10 MST dengan menghitung berdasarkan rumus berikut :

$$\text{Persentase eksplan yang hidup} = \frac{\text{Jumlah eksplan yang hidup}}{\text{Jumlah eksplan seluruhnya}} \times 100\%$$

3.6.2 Kondisi Eksplan

Pengamatan kondisi eksplan dilakukan dengan cara melihat langsung secara visual keadaan eksplan di dalam botol perlakuan tersebut, beberapa hal yang diamati antara lain warna eksplan, perkembangan eksplan, munculnya getah pada media tumbuh, munculnya nodul, munculnya calon tunas, bertambahnya jumlah daun tunas, hingga tanaman yang terkontaminasi maupun tidak terkontaminasi.

3.6.3 Jumlah Tunas

Jumlah tunas dihitung pada saat tunas pertama kali terbentuk sampai pada akhir penelitian, yaitu pada 10 MST.

3.6.4 Jumlah Akar

Jumlah akar dihitung pada saat akar pertama kali terbentuk sampai pada akhir penelitian, yaitu pada 10 MST.