

JURNAL METAMORFOSA

Journal of Biological Sciences

eISSN: 2655-8122

<http://ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfosa>

Perbanyak *Begonia bimaensis* Undaharta & Ardaka Dengan Teknik Kultur Jaringan

Propagation Of *Begonia bimaensis* Undaharta & Ardaka Using Tissue Cultura Technique

Tiwi Wati^{1*}, Ida Ayu Astarini², Made Pharmawati², Ema Hendriyani³

^{1,2}Program Studi Biologi, FMIPA, Universitas Udayana, Bali

³Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya "Eka Karya" Bali-LIPI

E-mail: tiwiwati635@gmail.com

INTISARI

Begonia bimaensis Undaharta & Ardaka adalah salah satu *Begonia* yang dikembangkan di Kebun Raya 'Eka Karya' Bali. Jenis ini merupakan spesies endemik yang ditemukan di Gunung Muria di Kabupaten Bima, Pulau Sumbawa. *Begonia bimaensis* memiliki rambut putih yang tumbuh pada permukaan atas daunnya. Perbanyak tanaman *B. bimaensis* perlu dilakukan dengan teknik kultur jaringan karena terbatasnya tanaman dan untuk menjaga kelestariannya. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui teknik sterilisasi yang tepat untuk inisiasi eksplan daun *B. bimaensis* dan mengetahui kombinasi ZPT kinetin dan 2,4-D yang paling efektif serta pengaruhnya terhadap pertumbuhan kultur *B. bimaensis*. Penelitian ini menggunakan media dasar MS (Murashige dan Skoog) dengan penambahan kombinasi ZPT kinetin (0 ppm, 1 ppm, dan 2 ppm) dan 2,4-D (0 ppm, 0,5 ppm, dan 1 ppm). Percobaan terdiri dari 9 perlakuan yang setiap perlakuan terdiri dari 3 ulangan dengan tiap ulangan terdiri dari 1 botol. Hasil penelitian menunjukkan bahwa teknik sterilisasi yang tepat yaitu menggunakan kombinasi sterilan yang berbeda (sabun *Sunlight*, fungisida, pemutih *Bayclin*, dan alkohol) dan waktu perendaman menggunakan fungisida selama 30 menit. Pemberian ZPT kinetin dan 2,4-D terhadap *B. bimaensis* mengakibatkan pertumbuhan yang lebih cepat. Pengaruh paling tinggi terhadap pertumbuhan kultur *B. bimaensis* diperoleh pada hari ke-12 setelah tanam dengan pemberian kinetin 2 ppm dan 2,4-D 0,5 ppm.

Kata kunci: *in vitro*, *Begonia*, 2,4-D, kinetin

ABSTRACT

Begonia bimaensis Undaharta & Ardaka is one of *Begonia* collection in 'Eka Karya' Bali Botanic Garden. This is an endemic species found on Mount Muria in Bima Regency, Sumbawa Island. *Begonia bimaensis* has white hair that grows on the top surface of its leaves. Propagation of *B. bimaensis* plants using tissue culture technique is important, because of the limited plant source and for its preservation. The purpose of this study is to obtain appropriate sterilization techniques for the *B. bimaensis* leaf explant, and to find out the most effective combination of kinetin and 2,4-D and their effects on the growth of *B. bimaensis* culture. This study uses MS (Murashige and Skoog) basic media using a combination of kinetin (0 ppm, 1 ppm, and 2 ppm) and 2,4-D (0 ppm, 0.5 ppm, and 1 ppm). The experiment consisted of 9 treatments with 3 replications, each replication consisted in 1 bottle. Results showed that proper sterilization technique was using a combination of different sterilants (*Sunlight*, fungicide, *Bayclin*, and alcohol) and soaking time using a fungicide for 30 minutes. Addition of Kinetin and 2,4-D to media resulting faster growth of *B. bimaensis*. The highest influence of kinetin and 2,4-D

on the growth of *B. bimaensis* culture was obtained on the 12th day after planting with concentration of kinetin 2 ppm and 2,4-D 0.5 ppm.

Keywords: *in vitro*, Begonia, 2,4-D, kinetin

PENDAHULUAN

Kebun Raya “Eka Karya” Bali merupakan salah satu kebun raya yang memiliki koleksi *Begonia* cukup lengkap sehingga Hoover *et al.* (2006) mengusulkan Kebun Raya Bali menjadi Pusat Konservasi dan Pengembangan Begonia di Indonesia. Oleh karena itu terus dilakukan upaya penambahan koleksi yang diikuti dengan penelitian dan pengembangannya dalam berbagai aspek. Jumlah koleksi *Begonia* di Kebun Raya “Eka Karya” Bali terus bertambah sejak 10 tahun terakhir. Usaha yang aktif dilakukan untuk menambah koleksi tersebut meliputi pelaksanaan eksplorasi flora yang dilakukan di seluruh pelosok Nusantara, penerimaan sumbangan instansi maupun perorangan dari dalam dan luar negeri, serta pertukaran benih dengan berbagai lembaga konservasi baik di dalam maupun di luar negeri (Siregaret *et al.*, 2007).

Begonia bimaensis Undaharta & Ardaka merupakan spesies baru yang ditemukan di Gunung Muria, Kabupaten Bima, Pulau Sumbawa, Indonesia. *Begonia bimaensis* serupa dengan *Begonia sendangensis* Ardi. Namun kedua spesies tersebut secara morfologi berbeda, dimana *B. bimaensis* dapat dengan mudah dibedakan dari rambut panjang putih lebat di permukaan atas daun. Jumlah tepal pada bunga betina dan bentuk sayap ovarium memberikan perbedaan lebih jauh. Bunga betina *B. bimaensis* memiliki empat tepal sedangkan pada *B. sendangensis* memiliki tiga tepal; pada *B. bimaensis*, bentuk sayap di ovarium sangat khas, berbentuk segitiga dan kebanyakan berujung pada *apex* (Undaharta *et al.*, 2015).

Begonia bimaensis merupakan spesies endemik yang saat ini diketahui dari satu

populasi saja, dan termasuk kategori *Vulnerable* menurut kriteria International Union for Conservation of Nature and Natural (IUCN). Oleh karena itu, jenis ini perlu dikembangkan dan dilestarikan agar tidak punah. Salah satu cara untuk mengembangkan spesies tersebut yaitu perbanyakan dengan menggunakan teknik kultur jaringan.

Media kultur jaringan mengandung unsur-unsur penting, salah satunya adalah zat pengatur tumbuh (ZPT). Dalam kultur jaringan ada dua golongan ZPT yang sangat penting, yaitu sitokinin dan auksin (Lestari, 2011). Kinetin merupakan salah satu dari hormon sitokinin dan 2,4-D merupakan salah satu hormon auksin.

Berdasarkan hal di atas, maka tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui teknik sterilisasi yang tepat untuk inisiasi eksplan daun *B. bimaensis*, mengetahui pengaruh ZPT kinetin dan 2,4-D terhadap pertumbuhan kultur *B. bimaensis*, dan mengetahui kombinasi ZPT kinetin dan 2,4-D yang paling efektif untuk pertumbuhan kultur *B. bimaensis*.

BAHAN DAN METODE

Bahan Tanaman

Penelitian ini menggunakan eksplan daun dan *planlet Begonia bimaensis*. Daun *B. bimaensis* dibagi menjadi tiga bagian yaitu tangkai daun, helaian daun dan pangkal daun dengan sedikit tangkai yang berukuran ± 1 cm. Eksplan *planlet B. bimaensis* berlekatan antara satu dengan yang lainnya sehingga dipisahkan satu persatu menjadi individu tersendiri.

Media

Metode yang digunakan yaitu teknik kultur jaringan dengan Rancangan Acak Lengkap dengan 2 faktor. Faktor pertama

adalah kombinasi konsentrasi kinetin yang terdiri dari 3 taraf, yakni : 0 ppm, 1 ppm dan 2 ppm. Faktor kedua adalah konsentrasi 2,4-D yang terdiri dari 3 taraf, yaitu: 0 ppm, 0,5 ppm dan 1 ppm. Sehingga dalam penelitian ini ada 9 kombinasi perlakuan dan masing-masing perlakuan terdiri dari 3 ulangan (Tabel 1).

Tabel 1. Kombinasi Media Perlakuan

No	Perlakuan	Hormon	
		Kinetin (ppm)	2,4-D (ppm)
1.	P1	0	0
2.	P2	0	0,5
3.	P3	0	1
4.	P4	1	0
5.	P5	1	0,5
6.	P6	1	1
7.	P7	2	0
8.	P8	2	0,5
9.	P9	2	1

Sub-kultur

Proses sub-kultur dilakukan pada *Laminar Air Flow cabinet* (LAF) dengan cara *planlet* dipisahkan satu per satu dengan mengambil satu tanaman dan dimasukkan kedalam media lalu ditutup rapat dan dilapisi dengan *plastic wrap*. Hasil sub-kultur diberi label dan disimpan di ruang kultur pada suhu 23°C di bawah pencahayaan lampu TL (18 Watt, 12 jam gelap, 12 jam terang).

Sterilisasi dan Penanaman Eksplan *Begonia bimaensis*

Sterilisasi eksplan daun *B. bimaensis* dilakukan dalam dua perlakuan. Pada perlakuan pertama eksplan direndam dalam larutan fungisida selama 5 menit dan pada perlakuan kedua dengan fungisida selama 30 menit. Tahapan sterilisasi dan penanaman eksplan daun *B. bimaensis* seperti dibawah ini.

Eksplan daun *B. bimaensis* sebanyak 30 tangkai diambil dari rumah kaca dan ditempatkan di gelas *beaker*. Daun *Begonia* kemudian dicuci dengan air mengalir diberikan 2 sendok makan (sdm) *Sunlight* digojok selama tiga menit dan dibilas. Setelah itu dibilas dengan air mengalir hingga busa hilang selama 10 menit. Daun yang sudah dibilas dimasukkan ke dalam larutan fungisida merek *Masalgin*. Sebanyak 15 tangkai eksplan daun *B. bimaensis* di rendam dalam larutan fungisida selama 10 menit dan 15 eksplan lagi direndam dalam larutan fungisida selama 30 menit. Tahap selanjutnya dilakukan pada *Laminar Air Flow cabinet*. Eksplan daun dipindahkan ke dalam aquades steril, dicelupkan dalam larutan *Bayclin* 5% lalu dibilas dalam aquades steril. Eksplan kemudian dicelupkan dalam alkohol 70% lalu dibilas dengan aquades steril. Setelah itu eksplan daun dimasukkan dalam *petri dish* steril. Eksplan dipotong menjadi tiga bagian, yaitu: helaian daun, tangkai daun dan pangkal daun dengan sedikit tangkai. Selanjutnya eksplan ditanam dalam media perlakuan, ditutup rapat dan dilapisi dengan *plastic wrap*.

Parameter yang Diamati

Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah persentase dan jenis kontaminasi pada eksplan daun, respon morfologis dan persentase eksplan kultur yang mati. Pengamatan eksplan *planlet B. bimaensis* dilakukan sebanyak 4 kali, yakni pada hari ke-3, 6, 9 dan 12 setelah tanam (HST). Pengamatan eksplan daun *B. bimaensis* dari rumah kaca dilakukan sebanyak 3 kali, yakni pada hari ke-2, 4, dan 6 hari setelah tanam (HTS).

Analisis Data

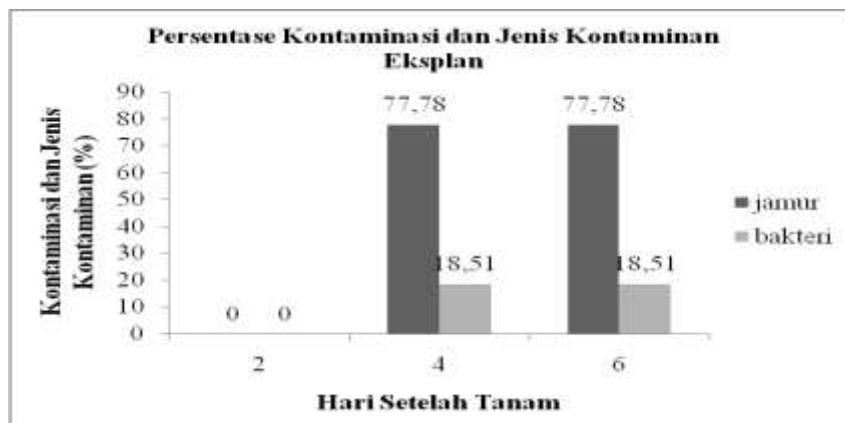
Data yang dianalisis adalah persentase kontaminasi pada eksplan daun, persentase respon pertumbuhan dan persentase eksplan kultur yang mati (mortalitas). Persentase

kontaminasi adalah perbandingan jumlah eksplan yang kontaminasi dengan jumlah eksplan yang ditanam. Persentase respon pertumbuhan adalah perbandingan antara jumlah kultur yang memberikan respon dengan jumlah kultur yang ditanam untuk setiap perlakuan. Persentase eksplan kultur yang mati adalah perbandingan jumlah kultur yang mati dengan jumlah kultur yang ditanam untuk setiap perlakuan.

HASIL

Eksplan Daun *B. bimaensis*

Pengamatan eksplan daun *B. bimaensis* pada perlakuan pertama (perendaman dalam fungisida selama 5 menit) menunjukkan kontaminasi yang disebabkan oleh jamur dan bakteri. Persentase eksplan yang terkontaminasi oleh jamur lebih banyak dibandingkan dengan bakteri. Kontaminasi oleh jamur sebesar 77,78% dan kontaminasi oleh bakteri sebesar 18,51% (Gambar 1).



Gambar 1. Persentase dan Jenis Kontaminan pada Eksplan Daun *B. Bimaensis*

Pengamatan eksplan daun *B. bimaensis* pada perlakuan kedua (perendaman dalam fungisida selama 30 menit) menunjukkan kontaminasi disebabkan oleh jamur dan tidak

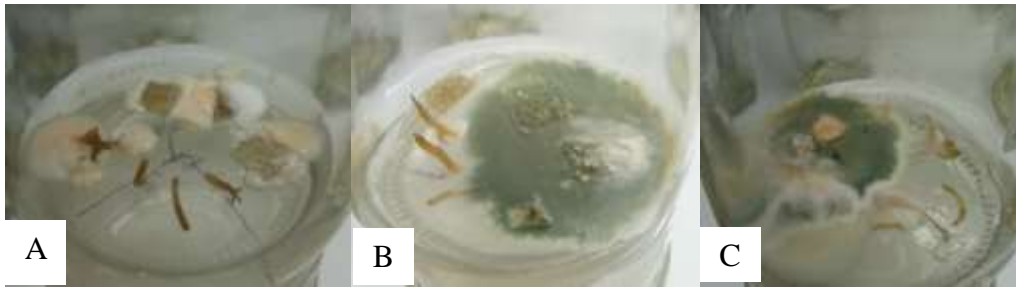
ada disebabkan oleh bakteri. Kontaminasi oleh jamur sebesar 55,56%. Gambar 2 menunjukkan persentase kontaminasi pada eksplan berdasarkan hari setelah tanam (HST).



Gambar 2. Persentase dan Jenis Kontaminan pada Eksplan Daun *B. bimaensis*

Pada 2 HST eksplan belum menunjukkan adanya kontaminasi tetapi pada 4 hingga 6

HST eksplan menunjukkan terjadinya kontaminasi yang disebabkan oleh jamur dan bakteri (Gambar 3).



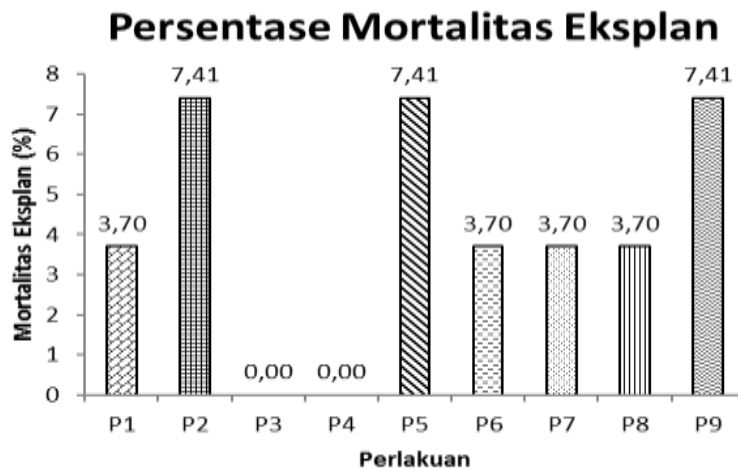
Gambar 3. Jenis Kontaminasi Eksplan (A) Eksplan yang Terkontaminasi oleh Bakteri. (B) Eksplan yang Terkontaminasi oleh Jamur, (C) Eksplan yang Terkontaminasi oleh Bakteri dan Jamur

Eksplan *Planlet B. bimaensis*

Persentase Mortalitas *Planlet B. bimaensis*

Penggunaan eksplan *planlet B. bimaensis* memiliki tingkat kematian eksplan yang paling

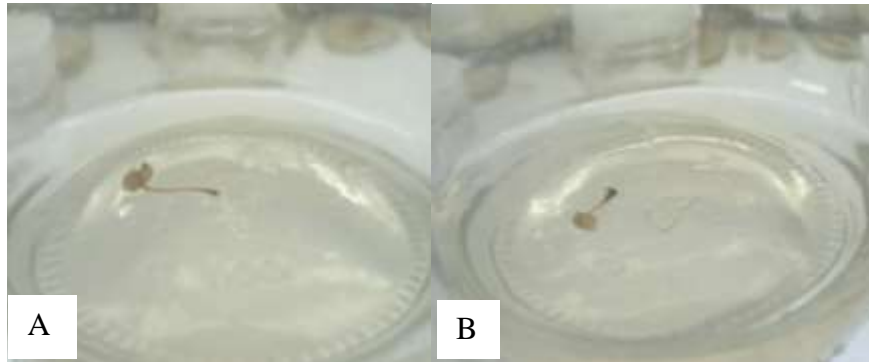
tinggi ada pada P2, P5, dan P9 adalah sebesar 7,41% sedangkan pada P3 dan P4 tidak ada yang mati (Gambar 4).



Gambar 4. Persentase Mortalitas Eksplan *Planlet B. bimaensis* pada 12 HST

Pada 3 HST mulai adanya pencoklatan pada ujung daun dan bagian tanaman yang terluka. Pada 6 HST beberapa eksplan

mengalami pencoklatan pada seluruh bagian yang menyebabkan eksplan mati (Gambar 5).

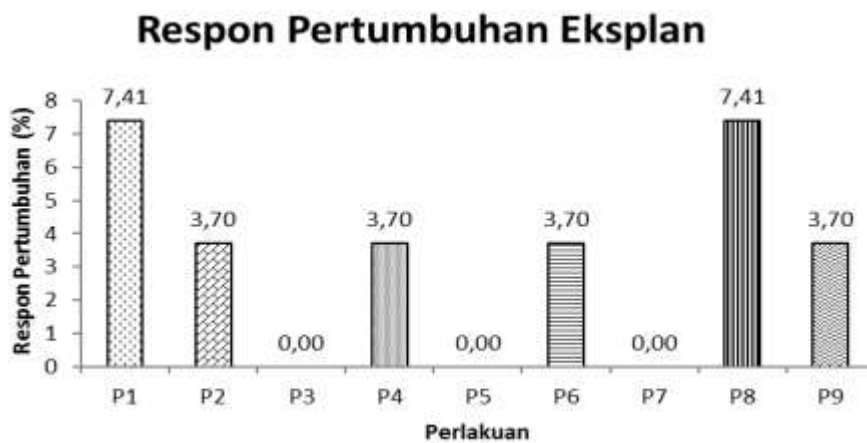


Gambar 5. *Planlet B. bimaensis* (A) & (B) *Planlet* yang Mati

Persentase Respon Pertumbuhan *Planlet B. bimaensis*

Penggunaan eksplan *planlet B. bimaensis* memiliki tingkat respon pertumbuhan pada 12 HST paling tinggi pada P1, P2, dan P8 adalah sebesar 7,41% sedangkan pada P3 tidak ada yang tumbuh (Gambar 6). Respon pertumbuhan

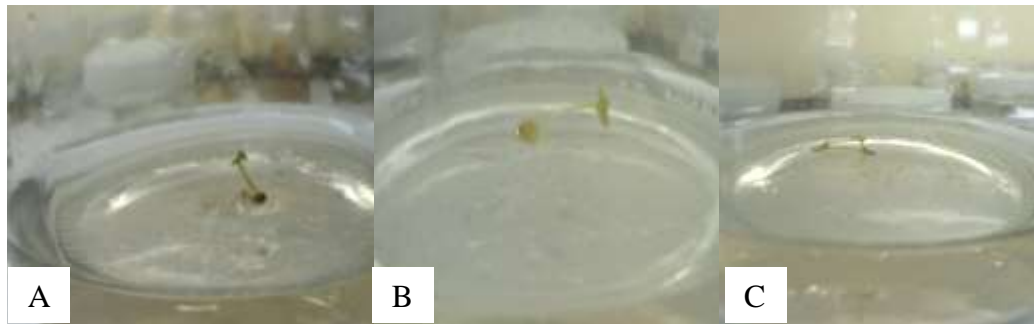
yang terbentuk dilihat dari adanya pembengkakan pada pangkal batang dan adanya perubahan warna dari hijau menjadi hijau pucat yang selanjutnya terbentuk tonjolan kecil yang sebagian terinduksi menjadi tunas.



Gambar 6. Persentase Respon Pertumbuhan *Planlet B. bimaensis* pada 12 HST

Pada 3 HST mulai adanya respon pertumbuhan pada bagian eksplan yang mengalami pelukaan yang ditandai adanya

pembengkakan yang berwarna hijau pada pangkal batang dan adanya induksi tunas pada P1 dan P8 (Gambar 7).



Gambar 7. Respon pertumbuhan eksplan (A) *Planlet B. Bimaensis*, (B) Pembengkakan pada Pangkal Batang pada P1, (C) Induksi Tunas pada P8

PEMBAHASAN

Eksplan Daun *B. bimensis*

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa eksplan terkontaminasi oleh jamur dan bakteri. Kontaminasi pada eksplan mulai terlihat pada 2 HST. Kontaminasi oleh jamur ditandai dengan munculnya koloni-koloni yang berwarna putih disekitar eksplan, munculnya hifa yang dicirikan dengan adanya garis-garis (seperti benang) yang berwarna putih sampai abu-abu, dan eksplan akan lebih kering. Kontaminasi yang terjadi oleh bakteri ditandai dengan munculnya koloni-koloni bakteri yang berwarna kecoklatan dan kuning, eksplan akan basah atau berlendir, hal ini dikarenakan bakteri langsung menyerang jaringan dari tubuh tumbuhan. Hal ini juga dijelaskan oleh Elfiani dan Jakoni (2015) bahwa kontaminasi yang disebabkan oleh jamur akan terlihat jelas pada media dimana media dan eksplan diselimuti oleh spora berbentuk kapas atau miselium yang berwarna putih dan hijau. Kontaminasi yang disebabkan oleh bakteri, pada eksplan terlihat lendir berwarna kuning sebagian lagi melekat pada media membentuk gumpalan yang basah.

Persentase tingkat kontaminasi oleh jamur pada eksplan yang direndam fungisida selama 5 menit lebih besar daripada persentase kontaminasi jenis bakteri. Faktor yang mempengaruhi kontaminasi kultur ada pada tahap sterilisasi bahan tanam. Eksplan daun *B. bimensis* memiliki rambut putih lebat di

permukaan daunnya merupakan tempat yang sesuai untuk menempel mikroorganisme jamur maupun bakteri sehingga rentan menyebabkan kontaminasi. Selain itu, kontaminasi bisa terjadi karena pada saat kultur musim penghujan dan sedang banyak media yang terkontaminasi jamur dari penelitian lain dalam laboratorium yang sama. Hal ini sesuai dengan pernyataan Setiyoko (1995) bahwa setiap kondisi kultur terkontaminasi sangat ditentukan oleh keahlian pelaksanaannya, sterilnya lingkungan kerja, jenis eksplannya, cara sterilisasinya, kondisi suhu dan iklim pada saat kultur.

Proses pembuatan dan sterilisasi media juga menjadi faktor yang penting dalam mendukung keberhasilan kultur jaringan karena media tumbuh dan eksplan paling rentan terhadap kontaminasi mikroorganisme. Gunawan (1988) mengatakan bahwa media kultur jaringan merupakan media yang sangat mendukung bagi mikroorganisme. Mikroorganisme tersebut tumbuh dengan cepat dan akan menutupi permukaan media dan eksplan yang ditanam. Disamping itu, mikroorganisme akan menyerang eksplan melalui luka akibat pemotongan dan penanganan waktu sterilisasi sehingga mengakibatkan kematian jaringan eksplan. Mikroorganisme seperti bakteri dan jamur membutuhkan nutrisi dimana media kultur mengandung nutrisi untuk pertumbuhan mikroorganisme tersebut (Waluyo, 2004)

Hasil pada percobaan pertama menunjukkan kontaminasi oleh jamur sebanyak 77,78% dan kontaminasi oleh bakteri sebesar 18,51% sehingga total kontaminasi pada eksplan sebesar 96,29%. Hasil percobaan kedua menunjukkan kontaminasi hanya disebabkan oleh jamur saja sebesar 55,56%. Kedua hasil tersebut menunjukkan perbedaan yang signifikan. Hasil tersebut memperlihatkan bahwa semakin lama waktu sterilisasi yang digunakan dari reagen anti mikroorganisme maka kontaminasi jamur dan bakteri pada kultur semakin menurun.

Penggunaan bahan sterilan pada percobaan kedua dapat menekan kontaminasi sebesar 40,73% yang lebih baik dibanding percobaan pertama. Rendahnya tingkat kontaminasi pada percobaan kedua karena penggunaan konsentrasi bahan sterilan yang tepat, disertai waktu perendaman yang lebih lama (30 menit) pada eksplan daun *B. bimaensis*. Hal tersebut didukung oleh pendapat Gunawan (1992) bahwa sebaiknya menggunakan bahan sterilisasi dengan konsentrasi yang rendah (tepat) dan periode perendaman yang lebih lama. Hal ini dimaksudkan agar pengaruh bahan tersebut dapat lebih efektif membunuh mikroorganisme tanpa mematikan sel-sel pada jaringan yang dikulturkan.

Penggunaan bahan sterilan seperti fungisida dan bakterisida dalam konsentrasi rendah yang disertai lama waktu perendaman eksplan yang relatif singkat, tidak mampu menekan risiko kontaminasi secara memadai seperti ditunjukkan pada percobaan pertama yang menimbulkan persentase kontaminasi sebesar 96,29%. Yusnita (2003) juga menyatakan bahwa sterilan berpengaruh terhadap tingkat kontaminasi dan konsentrasinya berpengaruh langsung terhadap pencoklatan pada eksplan. Dengan demikian, penggunaan bahan sterilan pada konsentrasi

yang sesuai memberikan hasil sterilisasi eksplan yang baik.

Eksplan *Planlet B. bimaensis*

Persentase mortalitas *planlet B. bimaensis*

Persentase kematian eksplan tertinggi adalah sebesar 7,41%. Eksplan yang mati ditandai dengan adanya pencoklatan atau *browning*. *Browning* (pencoklatan) merupakan gejala munculnya warna coklat pada eksplan sehingga akan menghambat pertumbuhan eksplan.

Queiroz *et al.* (2008) mengemukakan bahwa *browning* terjadi akibat adanya enzim polifenol oksidase yang mengakibatkan terjadinya oksidasi senyawa fenol menjadi quinon yang memproduksi pigmen berwarna coklat ketika jaringan terluka. Menurut Kaniyah *et al.* (2012) bahwa kemungkinan berhentinya respon eksplan diakibatkan oleh konsentrasi zat pengatur tumbuh yang digunakan, jika konsentrasi zat pengatur tumbuh terlalu rendah maka tidak mampu menginduksi kalus atau tunas, namun sebaliknya jika terlalu tinggi akan bersifat toksik bagi eksplan sehingga akan menyebabkan kematian pada eksplan.

Eksplan yang mati pada penelitian ini kemungkinan dapat terjadi karena adanya pelukaan akibat pemotongan atau pengirisan pada jaringan tanaman (eksplan). Kerusakan ini diakibatkan oleh senyawa fenol yang terakumulasi pada sel kemudian mengalami oksidasi. Hutami (2008) menjelaskan bahwa pencoklatan terjadi diakibatkan oleh enzim oksidase yang mengandung senyawa fenol yang disintesis dalam kondisi oksidatif ketika diberi pelukaan. Pelukaan eksplan mengakibatkan terjadinya enzim dan substrat keluar dari sel kemudian terjadi ikatan antara hidrogen dengan protein yang diikuti dengan meningkatnya aktivitas fenilalanin amonia liase (PAL) yang

memproduksi fenilpropanoid yang menyebabkan adanya pencoklatan.

Eksplan yang mati mungkin pula disebabkan karena konsentrasi bahan steril yang dicobakan cukup pekat. Selain itu, proses *browning* (pencoklatan) yang selanjutnya akan mengarah pada kematian eksplan dalam praktikum ini karena pada media yang digunakan tidak ditambahkan senyawa yang dapat mengabsorpsi asam fenolik seperti polyvinylpyrrolidone (PVP) (Santoso dan Nursandi, 2001), arang aktif atau nicotinic acid (Gunawan, 1992).

Persentase Respon Pertumbuhan Eksplan *Planlet B. bimaensis*

Eksplan planlet *B. bimaensis* yang disubkultur pada media dengan kombinasi 2,4-D dan kinetin pada berbagai tingkat konsentrasi, menunjukkan adanya respon pertumbuhan setelah 12 HST. Respon pertumbuhan yang muncul ditandai dengan adanya pembengkakan pada pangkal batangnya atau bagian yang mengalami pelukaan. Dalam perkembangan selanjutnya, dari bagian yang membengkak tersebut terbentuk tonjolan kecil yang kemudian tumbuh menjadi bakal tunas melalui proses organogenesis.

Kombinasi konsentrasi kinetin dan 2,4-D yang paling efektif menunjukkan adanya respon pertumbuhan seperti terbentuknya tunas pada P8 (MS+kinetin 2 ppm+2,4-D 0,5 ppm). Pemberian kombinasi perlakuan zat pengatur tumbuh pada media MS memberikan hasil yang cukup baik. Terbentuknya tunas pada perlakuan merupakan bukti bahwa sel-sel mampu merespon zat pengatur tumbuh kinetin dan 2,4-D yang diberikan secara kombinasi. Hal ini sesuai pernyataan Winarsih dan Priyono (2000) bahwa kombinasi perlakuan sitokinin dan auksin pada konsentrasi yang tepat dapat meningkatkan jumlah daun dan tunas.

Pada P1 (MS0) menunjukkan adanya respon pertumbuhan yang cukup tinggi yang sama dengan P8 yaitu sebesar 7,41%. Hal ini disebabkan karena media MS mengandung 40 mM N dalam bentuk NO₃ dan 29 mM dalam bentuk NH₄⁺. Konsentrasi ini lebih besar dibandingkan dengan media-media lainnya, sehingga mampu memberikan pertumbuhan pada eksplan. Saad and Elshahed (2012), menyatakan bahwa pada media MS mengandung nitrat, amonium, kalsium serta unsur makro dan mikro lain yang dapat mempengaruhi pertumbuhan eksplan.

Pada 12 HST beberapa eksplan sudah menunjukkan induksi tunas sedangkan beberapa eksplan lainnya baru menunjukkan adanya pertumbuhan eksplan. Pertumbuhan eksplan dapat dilihat dari adanya perubahan warna, dan pembengkakan eksplan. Hal ini didukung oleh pernyataan Raniyati (2009) bahwa pertumbuhan eksplan dapat dilihat dengan adanya perubahan warna, dan pembengkakan eksplan, hingga akhirnya pembentukan eksplan. Adanya respon perubahan warna yang terjadi pada eksplan diduga sebagai tanggapan terhadap rangsangan cahaya yang diberikan dan berkembangnya klorofil. Persentase respon morfologis pada beberapa eksplan belum bisa ditentukan antara tunas atau kalus karena waktu pengamatan yang cukup singkat. Pertumbuhan eksplan selama periode kultur memerlukan waktu yang relatif lebih lama.

Perbedaan waktu induksi tunas terjadi disebabkan karena adanya perbedaan kombinasi zat pengatur tumbuh yang diberikan. Pada hasil penelitian terlihat bahwa respon pertumbuhan yang paling baik yaitu pada P8 dengan kombinasi kinetin 2 ppm dan 2,4-D 1 ppm. Kartikasari *et al.*, (2013) menyebutkan bahwa penambahan sitokinin dalam konsentrasi yang tinggi memberikan pengaruh yang baik terhadap pembentukan tunas dan menghasilkan tunas terbanyak (Kartikasari *et al.*, 2013; Ferdous *et*

al., 2015). Tunas merupakan ranting muda yang baru tumbuh atau calon tanaman baru yang tumbuh dari bagian tanaman (Rahardja dan Wiryanta, 2003). Wetherell (1982), juga menyebutkan bahwa sitokinin mempunyai dua peranan penting untuk propagasi secara *in-vitro* yaitu merangsang pembelahan sel dalam jaringan yang dibuat eksplan dan merangsang pertumbuhan tunas daun.

KESIMPULAN

Teknik sterilisasi yang tepat yaitu menggunakan kombinasi sterilan yang berbeda dan waktu perendaman menggunakan fungisida yang lama. Pemberian ZPT kinetin dan 2,4-D memberikan pengaruh terhadap kultur *planlet B. bimaensis* yaitu dapat meningkatkan respon pertumbuhan yang lebih cepat, dan hari ke-12 setelah tanam pemberian kinetin 2 ppm dan 2,4-D 0,5 ppm memberikan pengaruh paling tinggi terhadap pertumbuhan kultur *B. bimaensis*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Bapak Dr. Bayu Adjie, M.Sc. atas ijin penelitian di Kebun Raya "Eka Karya" Bali.

DAFTAR PUSTAKA

- Elfiani dan Jakoni. 2015. Sterilisasi Eksplan dan Sub Kultur Anggrek, Sirih Merah dan Krisan pada Perbanyakan Tanaman Secara *In Vitro*. *Jurnal Dinamika Pertanian*. 3(2): 117-124.
- Ferdous, M.H., A.A.M. Billah, H. Mehraj, T. Taufique, and A.F.M.J. Uddin. 2015. BAP and IBA pulsing for in vitro multiplication of banana cultivars through shoot-tip culture. *Jurnal Bioscie. Agri. Research* 3(2): 87-95.
- Gunawan, L. W. 1988. *Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan*. Bogor: Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB – Lembaga Sumberdaya Informasi IPB
- _____. 1992. *Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan*. Bogor: Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB – Lembaga Sumberdaya Informasi IPB.
- Hoover, S.W., J.M. Hunter, H. Wiriadinata, and D. Girmansyah. 2006. Begonias at Bali Botanic Gardens, Indonesia. *The BEGONIAN Publication of the American Begonia Society*. 224-225
- Hutami, S. 2008. Masalah Pencoklatan pada Kultur Jaringan. *Jurnal Agrobien*. 4(2): 83-88.
- IUCN. 2012. *IUCN Red List Categories and Criteria: Version 3.1. Second Edition*. Switzerland, Gland and UK, Cambridge: IUCN.
- Kartikasari, P. M., T. Hidayat, dan E. Ratnasari. 2013. Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid) dan Kinetin (6-Furfurylaminopurine) untuk Pertumbuhan Tunas Eksplan Pucuk Tanaman Jabon (*Anthocephalus cadamba* Miq. ex Roxb.) secara *In Vitro*. *Jurnal Lentera Bio*. 2(1): 75–80.
- Khaniyah, S., N.A. Habibah dan Sumadi. 2012. Pertumbuhan Kalus Daun Dewa (*Gynura procumbens* [Lour] Merr.) dengan Kombinasi 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid dan Kinetin Secara *In Vitro*. *Biosaintifika*. 4(2).
- Lestari, E.G. 2011. Peranan Zat Pengatur Tumbuh dalam Perbanyakan Tanaman melalui Kultur Jaringan. *Jurnal Biogen* 7 (1):63-68.
- Queiroz, C., M.L. Lopes, E. Fialho and V.L. Valente-Mesquita. 2008. Polyphenol Oxidase : Characteristics and Mechanisms of Browning Control. *Food Review International*. 24: 361-375.

- Rahardja, P. C dan W. Wiryanta. 2003. *Aneka Cara Memperbanyak Tanaman*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Raniyati, Y. 2009. Peranan IAA dan BAP Terhadap Perkembangan Nodul Pisang (Musa AAB) Raja Nangka *secara In Vitro*. *Jurnal Agronomi*. 13(1): 1410-1939.
- Santoso, U. dan F. Nursandi. 2001. *Kultur Jaringan Tanaman*. Malang: Penerbitan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya.
- Saad, A.I.M., and A.M. Elshahed. 2012. Chapter II : Plant Tissue Culture Media. Intech, pp 29-40.
- Setiyoko, B.1995. Kultur Meristem Tanaman Pisang (*Musa paradisiaca* L.) Kultivar Ambon untuk Memperoleh Tanaman yang Bebas Cucumber Mosaic Virus. *Skripsi*. Yogyakarta: Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada.
- Siregar, M. Hartutiningsih, I M. Ardaka dan M. Siregar. 2007. Masa Berbunga 22 Jenis *Begonia* Alam di Kebun Raya “Eka Karya” Bali. *Biodiversitas*8 (3): 192-196.
- Undaharta, N.K.E., I Made Ardaka, Agung Kurniawan & Bayu Adjie. 2015. *Begonia bimaensis*, a new species of *Begonia* from Sumbawa Island, Indonesia. *Gardens’ Bulletin Singapore*. 67(1): 95–99.
- Waluyo, L., 2004, Mikrobiologi Umum, Malang, UMM press.
- Wetherell, D. F. 1982. *Pengantar Propagasi Tanaman secara In Vitro*. Koensoemardiyah S. SU, penerjemah; Semarang: IKIP Semarang Press. Terjemahan dari: *Introduction to In Vitro Propagation*.
- Winarsih, S. dan Priyono. (2000). Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh terhadap Pembentukan dan Pengakaran Tunas Mikro pada Asparagus secara InVitro. *Jurnal Hortikultura*. 10 (1): 11-17.
- Yusnita. 2003. *Kultur Jaringan: Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien*. Agromedia Pustaka: Jakarta. 105 Hal.