

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Nepenthes atau biasa disebut dengan kantong semar adalah tumbuhan karnivora yang memiliki keunikan ditandai dengan terdapatnya modifikasi daun berbentuk kantong di setiap ujung daunnya. Kantong ini berfungsi sebagai perangkap untuk memikat serangga dengan nektar yang dihasilkan dari bagian bawah kantong, mangsa akan tergelincir dari mulut kantong ke dalam genangan cairan di dasar kantong (Britannica, 2024). *Nepenthes* memperoleh sumber nutrisi dari serangga dan dedaunan yang masuk ke dalam kantong lalu diuraikan menjadi unsur senyawa kimia sederhana dengan bantuan cairan yang juga berfungsi sebagai enzim penghancur (Mansur, 2013). Keunikan dari kantong yang terdapat pada *Nepenthes* adalah variasi bentuk, ukuran, corak serta warna sesuai dengan tempat tumbuh dan jenisnya hal ini menjadikan penampilan dari *Nepenthes sp* terlihat eksotis. Dalam dunia internasional *Nepenthes sp* disebut dengan *the exotic pitcher plant* (Purwanto, 2007).

Jumlah *Nepenthes* di dunia terus bertambah sejak 2001 dari 87 jenis menjadi 139 jenis pada tahun 2012. Sebanyak 68 jenis diantaranya terdapat di Indonesia, dengan 59 jenis termasuk golongan endemik. *Nepenthes* umumnya dapat tumbuh di hutan hujan dengan kelembaban udara cukup tinggi di atas 80%. Distribusi *Nepenthes* di dunia tersebar mulai dari Madagaskar, China bagian selatan, Asia Tenggara, Australia bagian utara sampai Kepulauan Seychelles (Mansur, 2013). Di Indonesia sendiri *Nepenthes* banyak terdapat di pulau Sumatera sebanyak 39 jenis (Hernawati dkk., 2022). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Mansur (2013) terdapat tiga jenis *Nepenthes* yang tumbuh di pulau Jawa dari sekian jenis *Nepenthes* yang terdapat di Indonesia, yaitu *Nepenthes gymnamphora* Nees, *Nepenthes mirabilis* (Lour.) Druce dan *Nepenthes adriani* Batoro. Spesies *Nepenthes gymnamphora* tersebar luas di Jawa Barat, Jawa Tengah, dan Jawa Timur, sedangkan *Nepenthes mirabilis* banyak ditemukan di Jawa Timur. Mansur (2012) menambahkan *Nepenthes gymnamphora* merupakan salah satu spesies dari

jenis *Nepenthes* dataran tinggi yang tercatat sebagai tumbuhan endemik pulau Jawa.

Nepenthes gymnamphora yang merupakan tumbuhan eksotis karena memiliki morfologi yang unik ini mulai menarik perhatian banyak masyarakat karena dapat dimanfaatkan sebagai tanaman hias. Manfaat lain yang ada pada tumbuhan dari genus *Nepenthes* selain sebagai tanaman hias dapat dijadikan sebagai obat tradisional. *Nepenthes* dimanfaatkan sebagai obat sakit mata, batuk dan obat kulit oleh masyarakat Dayak di Kalimantan, menggunakan cairan yang terdapat pada *Nepenthes* (Mansur, 2006). Potensi dan manfaat lain yang ada pada *Nepenthes* membuat tanaman ini kerap dicari. Menurut Yelli (2013) meningkatnya minat terhadap *Nepenthes* sebagai tanaman hias, mengakibatkan terjadinya pemanenan secara liar di alam tanpa diiringi upaya untuk konservasi yang menyebabkan jumlah spesies ini semakin berkurang. Pembakaran dan alih fungsi lahan hutan juga menjadi penyebab semakin susah ditemukannya spesies tanaman ini di hutan. Keberadaan *Nepenthes* yang langka bahkan pada sebagian spesies sudah mengalami kepunahan membuat keberadaan *Nepenthes* tercatat dalam daftar *Convention on International Trade in Endangered* (CITES) sebagai langkah perlindungan di tingkat Internasional (Handoyo & Sitanggang, 2006). Di Indonesia seluruh spesies *Nepenthes* tercatat sebagai salah satu kelompok tumbuhan dengan prioritas konservasi tinggi, hal ini terdapat dalam Peraturan Menteri Kehutanan Nomor P.57/Menhut-II/2008 (Hernawati, 2022). Status *Nepenthes gymnamphora* menurut laporan *Convention on International Trade of Endangered Species* (CITES) pada tahun 2020 termasuk dalam kategori Appendix II yang berarti terancam punah. Hal ini sesuai dengan peraturan di Indonesia yang tercatat dalam Undang-Undang RI Nomor 5 Tahun 1990 tentang Konservasi Sumber Daya Hayati dan Ekosistemnya, Peraturan Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan Nomor P.106 tentang Jenis Tumbuhan dan Satwa yang Dilindungi di Indonesia yang mengategorikan spesies *Nepenthes gymnamphora* sebagai spesies yang dilindungi (Hernawati dkk., 2022; Mansur, 2006)

Keberadaan *Nepenthes gymnamphora* yang langka dan tingginya minat masyarakat terhadap tumbuhan eksotis ini, perlu diiringi dengan usaha konservasi

dan budidaya untuk melestarikan keberadaan tumbuhan *Nepenthes gymnamphora*. Metode budidaya atau perbanyak *Nepenthes gymnamphora* dapat dilakukan dengan cara konvensional baik melalui biji maupun vegetatif buatan. Menurut Siregar (2020) dalam proses perbanyak *Nepenthes* menggunakan biji salah satu hambatan yang sering dialami adalah sulitnya menemukan keberadaan serta ketersediaan biji dari *Nepenthes* secara alami di alam bebas. Hal ini disebabkan karena *Nepenthes* termasuk jenis tumbuhan dengan bunga jantan dan bunga betina yang terpisah atau berumah dua, serta proses perbungaannya yang relatif lama. Di daerah tropis dalam kondisi normal *Nepenthes* mampu menghasilkan persentase perkecambahan sebesar 17-83% dalam waktu yang lama (Chanchula, 2013). Kesulitan lainnya dalam perbanyak *Nepenthes* terdapat dalam perbanyak secara vegetatif buatan berupa cangkok dan stek. Perbanyak dengan metode cangkok dan stek pada *Nepenthes* memerlukan waktu yang relatif lama, hal ini karena metode cangkok membutuhkan anakan *Nepenthes* untuk pengaplikasiannya, sedangkan jumlah anakan *Nepenthes* di alam relatif sedikit (Siregar, 2020). Dikarenakan kendala dan permasalahan dalam metode perbanyak *Nepenthes* secara konvensional maka diperlukan alternatif metode perbanyak yang dapat dilakukan sebagai usaha untuk budidaya *Nepenthes*, salah satu metode alternatif yang dapat dilakukan adalah kultur jaringan tumbuhan atau perbanyak tumbuhan secara *in vitro*.

Teknik kultur jaringan sudah banyak dilakukan sebagai metode perbanyak tanaman yang sulit dipropagasi secara konvensional, tanaman yang memiliki nilai ekonomi tinggi dan tanaman yang tergolong langka (Sudarmonawati dkk., 2002). Tjokrokusumo (2004) menambahkan bahwa teknik kultur jaringan memiliki potensi yang sangat besar sebagai koleksi, pertukaran serta konservasi plasma nutfah. Terdapat beberapa kelebihan dalam perbanyak tumbuhan secara bioteknologi melalui kultur jaringan yaitu, waktu yang diperlukan tidak lama, tidak membutuhkan lahan yang banyak, dapat mengefisienkan waktu dan biaya, dan melalui faktor lingkungan terkontrol bisa mendapatkan tanaman sesuai yang kita inginkan (Purwanto, 2007). Dalam penerapan metode kultur jaringan keberhasilan pengaplikasiannya dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu, genotip

tanaman, jenis eksplan yang digunakan, zat pengatur tumbuh, sumber karbon, kondisi lingkungan kultur, dan cahaya (Rahman dkk., 2015). Bagian tanaman yang masih aktif membelah (meristem) pada umumnya menjadi bagian yang digunakan dalam teknik kultur jaringan. Bagian-bagian tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai eksplan yaitu akar, biji, tunas, pucuk, daun, kotiledon, hipokotil, bakal buah, dan buah (Henuhili, 2013). Jenis eksplan yang digunakan dalam penelitian ini berupa bagian daun dari *Nepenthes gymnamphora*.

Dalam penerapan metode kultur jaringan, kondisi kultur dan media yang digunakan sebagai sumber nutrisi eksplan menentukan keberhasilan kultur jaringan, karena setiap tanaman memiliki respons yang spesifik. Media yang dipakai dalam kultur jaringan umumnya terdiri atas komposisi unsur hara makro, hara mikro, vitamin, gula, asam amino, sumber organik, buffer, bahan pematid, dan zat pengatur tumbuh (Alitalia, 2008). Media *Murashige and Skoog* atau biasa disebut media MS merupakan media yang biasa dipakai dalam teknik kultur jaringan. Gunawan (1995) menyatakan media *Murashige dan Skoog* banyak digunakan dalam metode kultur jaringan karena mengandung unsur-unsur yang lebih lengkap. Medium MS yang umum digunakan dan baik bagi kultur jaringan *Nepenthes* adalah medium $\frac{1}{2}$ MS. Pada penelitian yang dilakukan Novitasari & Isnaini (2019) menunjukkan bahwa media yang baik untuk membentuk kalus pada eksplan daun *Nepenthes ampullaria* adalah media $\frac{1}{2}$ MS dengan tambahan 1 ppm 2,4-D dan 0,1 ppm kinetin.

Penggunaan zat pengatur tumbuh (ZPT) dalam kultur jaringan adalah faktor lain yang penting dan berpengaruh. Menurut Yusnita (2003) kombinasi serta konsentrasi dari zat pengatur tumbuh pada komposisi media dalam kultur jaringan tumbuhan merupakan faktor penting yang harus diperhatikan. Kombinasi antara media dengan tambahan ZPT dapat mengoptimalkan pertumbuhan eksplan, penambahan ZPT pada kultur jaringan dapat merangsang atau menghambat proses fisiologis tanaman (Indria, 2016). Sitokinin dan auksin merupakan zat pengatur tumbuh yang biasa digunakan saat pengaplikasian kultur jaringan (Karjadi & Bukhori, 2008). Zulkarnain (2009) menambahkan bahwa pemberian auksin serta sitokinin sebagai zat pengatur tumbuh berperan penting dalam mengontrol

pembelahan, pemanjangan, diferensiasi sel, serta pembentukan organ saat kultur jaringan dilakukan. Penggunaan auksin dan sitokinin dalam konsentrasi yang sesuai dapat memberikan pertumbuhan yang baik terhadap pembentukan daun, tunas, serta ruas tanaman (Gunawan, 1995).

Golongan auksin yang umum digunakan diantaranya *Indol Acetic Acid* (IAA), *Naphthalene Acetic Acid* (NAA), dan *2,4 dichlorophenoxy acetic acid* (2,4-D). Golongan sitokinin berupa *Benzyl adenine* (BA), *Benzylamino-purine* (BAP), Kinetin, dan Zeatin, Pertumbuhan kalus, suspensi sel dan organ serta arah morfogenesis dipengaruhi oleh ZPT dari golongan auksin (George dkk., 2008). Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat merupakan zat pengatur tumbuh sintetis yang termasuk golongan auksin dan umum digunakan dalam penelitian menggunakan metode kultur jaringan (Handayani dkk., 2019). Sifat tidak mudah terurai oleh enzim yang dikeluarkan sel atau ketika pemanasan saat dilakukan proses sterilisasi membuat 2,4-D menjadi golongan auksin yang memiliki sifat stabil (George dkk., 2008). Pemberian auksin sintetis berupa 2,4-D dapat meningkatkan proses fisiologi tanaman pada eksplan daun dan eksplan internode sehingga eksplan dapat bertahan hidup (Smith, 2013).

Penggunaan ZPT berupa 2,4-D dapat diaplikasikan pada berbagai bagian tumbuhan yang dijadikan eksplan, namun biasanya pemanfaatan 2,4-D sebagai ZPT dilakukan pada eksplan berupa daun. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Novitasari & Isnaini (2019) pada eksplan daun *Nepenthes ampullaria* menggunakan penambahan 1 ppm 2,4-D serta 0,1 ppm kinetin pada media $\frac{1}{2}$ MS, dapat memberikan hasil berupa pembentukan kalus sebesar 100%. Penelitian lainnya oleh Novitasari & Isnaini pada (2021) menunjukkan bahwa eksplan daun *Nepenthes gracilis* dan *Nepenthes reinwardtiana* yang dikultur pada media $\frac{1}{2}$ MS dengan tambahan 2 ppm 2,4-D dan 0,5 ppm kinetin menjadi media yang terbaik dalam memberikan induksi kalus.

Kitosan merupakan senyawa yang berperan untuk menstimulasi pertumbuhan tunas tanaman secara *in vitro* (Nge dkk., 2006). Menurut Agustini dkk., (2020) kitosan mempunyai kandungan berupa zat pengatur tumbuh seperti sitokinin (Kinetin dan Zeatin), auksin (*Indole Acetic Acid*), serta giberelin (GA₃,

GA5, GA7). Kitosan juga berperan dalam mengaktifkan sel, mengatur sistem kekebalan tanaman, serta meningkatkan pertahanan tanaman dari serangga maupun penyakit (Agustini dkk., 2020). Kitosan biasa digunakan sebagai stimulator untuk membantu pertumbuhan dan perkembangan eksplan dalam kultur jaringan tumbuhan, penggunaan kitosan dapat dikombinasikan dengan ZPT lainnya. Pada penelitian yang dilakukan oleh Makmuryani (2016) menggunakan eksplan daun dan internodus *Mentha piperita*. Penambahan kombinasi 2,4-D dan kitosan dalam media MS dapat meningkatkan pembentukan dan pertumbuhan kalus eksplan *Mentha piperita* sebesar 81% sampai 100%. Berdasarkan pustaka yang telah diperoleh, penambahan kitosan pada media kultur yang ditanami *Nepenthes* sejauh ini masih belum dilakukan. Penambahan kombinasi ZPT berupa 2,4-D dan kitosan pada media $\frac{1}{2}$ MS dalam teknik kultur jaringan menggunakan eksplan daun *Nepenthes* juga belum pernah dilakukan. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bagaimana respons yang diberikan oleh eksplan daun *Nepenthes gymnamphora* yang ditanam dalam media $\frac{1}{2}$ MS dengan tambahan 2,4-D dan kitosan.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan maka rumusan masalah dapat dipaparkan dari penelitian ini yaitu “Bagaimana respons eksplan daun *Nepenthes gymnamphora* yang dikultur pada media $\frac{1}{2}$ MS dengan penambahan asam 2,4-Diklorofenoksiasetat dan kitosan?”

1.3 Pertanyaan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang ada, didapatkan pertanyaan penelitian sebagai berikut:

- 1.3.1 Bagaimana interaksi antara 2,4-D dengan kitosan dengan konsentrasi berbeda terhadap respons eksplan daun *Nepenthes gymnamphora*?
- 1.3.2 Bagaimana pengaruh dari kombinasi 2,4-D dan kitosan terhadap eksplan daun *Nepenthes gymnamphora* yang memberikan respons perubahan morfologi (pembengkakan)?

- 1.3.3 Bagaimana pengaruh dari kombinasi 2,4-D dan kitosan terhadap eksplan daun *Nepenthes gymnamphora* yang bertahan memberikan warna hijau?
- 1.3.4 Bagaimana pengaruh dari kombinasi 2,4-D dan kitosan terhadap eksplan daun *Nepenthes gymnamphora* yang mengalami *browning*?

1.4 Batasan Masalah

Ruang lingkup penelitian ini dibatasi pada hal-hal berikut:

- 1.4.1 Bagian daun yang digunakan sebagai eksplan dalam penelitian ini berupa daun ke-1 hingga daun ke-4 dari tumbuhan *Nepenthes gymnamphora* yang diambil dari wilayah Ciwidey, Kabupaten Bandung.
- 1.4.2 Respons eksplan dapat dilihat berdasarkan: (1) Eksplan yang mengalami perubahan morfologi (pembengkakan), (2) Eksplan yang bertahan memberikan warna hijau, (3) Eksplan yang mengalami *browning*.
- 1.4.3 Konsentrasi asam 2,4-Diklorofenoksiasetat yang digunakan adalah: 0 ppm; 0,5 ppm; 1 ppm; 1,5 ppm; 2 ppm.
- 1.4.4 Konsentrasi kitosan yang digunakan adalah 0 ppm; 5 ppm; 10 ppm; 15 ppm; 20 ppm.

1.5 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukannya penelitian ini secara umum bertujuan untuk memperoleh informasi terkait respons eksplan daun *Nepenthes gymnamphora* yang dikultur pada media $\frac{1}{2}$ MS dengan tambahan kombinasi zat pengatur tumbuh asam 2,4-Diklorofenoksiasetat dan kitosan dengan konsentrasi yang berbeda, serta mendapatkan konsentrasi dari kombinasi 24-D dan kitosan yang tepat yang dapat memberikan respons terbaik. Tujuan penelitian ini secara khusus untuk:

- 1.5.1 Mendapatkan teknik kultur jaringan yang tepat dalam perbanyakan *Nepenthes gymnamphora*.
- 1.5.2 Mendapatkan konsentrasi kombinasi 2,4-D dan kitosan yang menghasilkan respons pada eksplan daun *Nepenthes gymnamphora* yang mengarah pada pembentukan tunas vegetatif (planlet).

1.6 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan didapat dari penelitian ini adalah:

- 1.6.1 Memberikan informasi terkait respons yang ditunjukkan oleh eksplan daun *Nepenthes gymnamphora* yang dikultur pada media ½ MS dengan penambahan 2,4-D dan kitosan.
- 1.6.2 Memberikan informasi terkait kombinasi 2,4-D dan kitosan yang dapat memberikan pengaruh pada eksplan yang menunjukkan respons induksi kalas atau tunas, bertahan hijau, dan mengalami *browning*.
- 1.6.3 Dapat dijadikan sebagai referensi untuk penelitian lanjutan terkait respons eksplan daun *Nepenthes gymnamphora* yang dikultur pada media ½ MS dengan penambahan 2,4-D dan kitosan.

1.7 Asumsi

Penambahan 2,4-D sebagai ZPT pada konsentrasi rendah sekitar 1-5 ppm berperan dalam mendorong morfogenesis kalus dan menyebabkan terjadinya proliferasi kalus embrionik pada eksplan (Pawar dkk., 2007; Zulkarnain & Lizawati, 2011). Kitosan yang diaplikasikan pada medium kultur dapat meningkatkan perkecambahan biji, induksi tunas, dan akar. Melalui berbagai jalur pensinyalan kitosan sebagai biostimulator dapat mengaktifkan respons tanaman dan merangsang pertumbuhan tanaman (Ahmed dkk., 2020; Coelho & Romano, 2021; Zhang dkk., 2018). Berdasarkan hal tersebut maka asumsi dalam penelitian ini adalah melalui penambahan kombinasi 2,4-D dan kitosan pada medium kultur diharapkan dapat memberikan pengaruh positif terhadap respons eksplan daun *Nepenthes gymnamphora*.

1.8 Hipotesis

- 1.8.1 Terdapat interaksi antara asam 2,4-Diklorofenoksiasetat dan kitosan terhadap eksplan daun *Nepenthes gymnamphora* yang memberikan respons perubahan morfologi, bertahan hijau, dan yang mengalami *browning*.
- 1.8.2 Terdapat pengaruh kombinasi asam 2,4-Diklorofenoksiasetat dan kitosan terhadap eksplan daun *Nepenthes gymnamphora* yang memberikan

respons perubahan morfologi, bertahan hijau, dan yang mengalami *browning*.

1.9 Struktur Organisasi Skripsi

1.9.1 BAB I Pendahuluan

Pada bab ini dipaparkan penjelasan terkait latar belakang masalah, tujuan dilakukannya penelitian, manfaat yang diharapkan dari penelitian, pertanyaan penelitian, hipotesis, asumsi awal serta batasan masalah dalam penelitian.

1.9.2 BAB II Tinjauan Pustaka

Pada bab ini dipaparkan terkait teori-teori yang ditemukan dan dapat mendukung penelitian. Bagian awal menjelaskan terkait tumbuhan *Nepenthes gymnamphora* seperti klasifikasi, morfologi, habitat serta budidayanya. Bagian kedua menjelaskan terkait kultur jaringan tumbuhan, serta faktor penting dari teknik kultur jaringan berupa media kultur dan zat pengatur tumbuh. Ketiga dijelaskan respons yang dapat terjadi pada kultur jaringan. Keempat dipaparkan mengenai kontaminasi sebagai faktor yang menjadi penghambat berhasilnya kultur jaringan tumbuhan.

1.9.3 BAB III Metode

Pada bab ini dijabarkan terkait metode yang digunakan dalam penelitian, dimulai dari jenis penelitian, desain penelitian, waktu dan tempat penelitian, alat dan bahan yang digunakan, prosedur penelitian yang dilakukan, serta alur selama penelitian.

1.9.4 BAB IV Temuan dan Pembahasan

Pada bab ini dipaparkan mengenai hasil yang diperoleh dari penelitian. Data yang didapat dianalisis lalu dibahas menggunakan teori-teori yang mendukung hasil penelitian.

1.9.5 BAB V Simpulan, Implikasi, dan Rekomendasi

Pada bab ini terdapat kesimpulan akhir dari hasil serta analisis yang dilakukan dalam penelitian, implikasi, dan rekomendasi. Rekomendasi disampaikan berdasarkan kekurangan yang ditemukan selama penelitian sebagai bahan perbaikan untuk penelitian mendatang.