

Tersedia online di: <http://ejournal-balitbang.kkp.go.id/index.php/ma>

PEMBENTUKAN *MOTHER PLANT Bacopa australis* SECARA *IN-VITRO* PADA BERBAGAI DOSIS ZAT PENGATUR TUMBUH DAN MEDIA AKLIMATISASI

Media Fitri Isma Nugraha^{*)#}, Rossa Yunita^{*)}, Endang Gati Lestari^{*)}, dan Idil Ardi^{*)}

^{*)} Balai Riset Budidaya Ikan Hias

^{*)} Balai Besar Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian Bogor

(Naskah diterima: 6 April 2017; Revisi final: 26 November 2017; Disetujui publikasi: 26 November 2017)

ABSTRAK

Tanaman air adalah bagian penting dari ekosistem air tawar. Salah satu spesies yang terkenal adalah *Bacopa australis*. Hobiis *aquascape* saat ini memiliki ketertarikan tinggi terhadap tanaman air dengan kualitas yang bagus dari setiap spesiesnya. Metode perbanyakan tanaman air tanpa tanah, lahan pertanian dan air perlu dilakukan untuk memenuhi keinginan tersebut. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan formula media kultur jaringan dan zat pengatur tumbuh yang tepat untuk multiplikasi dalam perakitan *mother plant* (tanaman induk) *Bacopa australis*, serta mendapatkan media terbaik untuk aklimatisasi. Media yang digunakan adalah media Murashige dan Skoog (MS) A padat dengan perbedaan konsentrasi zat pengatur tumbuh. Perlakuan uji dalam kombinasi zat pengatur tumbuh (a) 0,50 mg/L BAP + 0,50 mg/L kinetin; (b) 0,50 mg/L BAP; dan (c) 0,50 mg/L 2,4-D. Aklimatisasi tanaman induk dilakukan pada berbagai media antara lain 1) pasir silika + pupuk *aqua soil amazonia*, 2) pasir malang + pupuk *aqua soil amazonia*, 3) pasir silika + pupuk cair; 4) pasir malang + pupuk. Hasil yang diperoleh, yaitu formula media kultur terbaik untuk multiplikasi tunas tanaman *B. australis* secara *in-vitro* adalah media MS (A) yang diperkaya dengan 0,5 mg/L BAP + 0,5 mg/L kinetin, sedangkan aklimatisasi terbaik pada media pasir malang + pupuk *aqua soil amazonia*.

KATA KUNCI: *Bacopa australis*; *in-vitro*; tanaman induk; zat pengatur tumbuh; media aklimatisasi

ABSTRACT: *The assembly of mother plant Bacopa australis with in-vitro propagation and acclimatisation in fresh water aquascape. By: Media Fitri Isma Nugraha, Rossa Yunita, Endang Gati Lestari, and Idil Ardi*

Water plant is an important part of freshwater ecosystems. One of the famous species is Bacopa australis. Today, many aquascape hobbyists have a high interest in aquatic plant species that have good aesthetic appearances. To answer this challenge, a new method in-vitro propagation of aquatic plants, planted without soil, agricultural land and water was conducted. The aim of this research was to find the best growth regulator hormon formula and acclimatisation medium, in creating the mother plant Bacopa australis. The medium used was MS (Murashige and Skoog, 1974) with different growth regulator hormon, i.e: (a) 0.50 mg L⁻¹ BAP + 0.50 mg L⁻¹ kinetin, (b) 0.50 mg L⁻¹ BAP, (c) 0.50 mg L⁻¹ 2.4-D. The acclimatisation of the mother plant candidates used four treatments, i.e: (1) silica sand + aqua soil amazonia fertilizer, (2) malang sand + aqua soil amazonia fertilizer, (3) silica sand + liquid fertilizer, (4) malang sand + liquid fertilizer. The results showed that the best formula for in-vitro multiplication mother plant of Bacopa australis was MS medium with 0.5 mg/L BAP + 0.5 mg/L kinetin (treatment A). The best medium acclimatisation was malang sand + aqua soil amazonia fertilizer medium.

KEYWORDS: *Bacopa australis*; *in-vitro*; mother plant; growth regulator hormone; medium acclimatization

PENDAHULUAN

Genus *Bacopa* adalah anggota terkenal dari famili *Scrophulariaceae*. Beberapa jenis spesies *Bacopa* yang telah banyak diperdagangkan di dunia tanaman air,

antara lain: *B. caroliniana*, *B. ianigera*, *B. myriophylloides*, *B. monnieri*, *B. rotundifolia*, *B. chamaedryoides* (Kunth) Wettst (Syn. *Herpestis chamaedryoides* Kunth), *B. australis*. Genus *Bacopa* memiliki banyak keunggulan, salah satunya *B. monnieri* L., yang memiliki zat aditif sebagai stimulan otak alami. *B. chamaedryoides* (Kunth) Wettst. (Syn. *Herpestis chamaedryoides* Kunth) juga telah digunakan dan dianggap sebagai tanaman obat penting di India.

Korespondensi: Balai Riset Budidaya Ikan Hias.
Jl. Perikanan No. 13, Pancoran Mas, Depok 16364, Indonesia.
Tel. + 62 21 7520482
E-mail: media.fitri@kkp.go.id

Secara historis, suku, masyarakat, dan komunitas modern, orang-orang umum India, telah menggunakan ramuan obat tradisional ini sebagai neuro-stimulan dan untuk tujuan lain (Haque & Ghosh, 2013).

Di antara banyaknya jenis spesies *Bacopa*, spesies yang diminati sebagai tanaman hias dalam air adalah *B. australis*. *B. australis* ditemukan di Brasil Selatan (*australis* = selatan: bahasa Brazil). *B. australis* bukan berasal dari Australia, seperti anomim dari nama spesies ini. *B. australis* juga mudah tumbuh di akuarium seperti spesies *Bacopa* lainnya, dalam kondisi tertentu merayap di bagian bawah untuk membentuk sebuah bantalan hijau yang elegan dan dekoratif. *B. australis* ketika tumbuh dalam cahaya yang baik, daunnya menjadi kemerahan, mempunyai tinggi 7-30 cm, lebar batang tubuh 2-4 cm, dapat beradaptasi pada suhu 15°C-30°C dengan tingkat kesadahan air 1-30 dH, serta pertumbuhan yang cepat (Tropica.com, 2017).

Nugraha *et al.* (2016) memaparkan hasil penelitiannya dari tahun 2010 tentang tanaman air yang ditanam secara konvensional di area tanah, yang berlokasi di Balai Riset Budidaya Ikan Hias (BRBIH) Depok, hasil yang didapatkan tidak maksimal. Tanaman air melakukan pertumbuhan tetapi tidak melakukan reproduksi/perbanyakan. Hal ini dikarenakan kondisi lingkungan dan iklim yang tidak sesuai dengan tanaman air ini.

Bacopa sp., diminati sebagai tanaman eksotik untuk penghias akuarium air tawar. Meningkatnya permintaan terhadap spesies tanaman air, menyebabkan keberadaan spesies ini mulai terancam. Perbanyakan spesies ini secara menjaral dan melalui biji, namun perkecambahan biji sangat rendah sekali dan tanaman berkualitas tinggi tidak mudah tersedia karena benih bersifat heterozigositas (Haque & Ghosh, 2013). Teknologi budidaya mutakhir dibutuhkan untuk perbanyakan somaklonal dalam skala besar, serta pasokan yang stabil sepanjang tahun. Metode mutakhir yang dapat diaplikasikan adalah perbanyakan secara *in-vitro* (*mikropropagasi*). Teknik tersebut dapat mempersingkat siklus pemuliaan untuk menghasilkan tanaman dengan kualitas yang lebih baik sehingga dapat memenuhi permintaan pasar (Kie³kowska & Havey, 2012; Haque & Ghosh, 2013).

Pada penelitian ini perbanyakan tanaman air dilakukan dengan bioteknologi secara *in-vitro* melalui pemanfaatan sifat totipotensi sel tanaman. Metode ini dinamakan teknik *tissue culture*/kultur jaringan. Kultur Jaringan adalah sebuah metode penanaman protoplas, sel, jaringan, dan organ tanaman pada media buatan dalam kondisi aseptik sehingga dapat beregenerasi menjadi tanaman lengkap (Verdeil *et al.*, 2007; Fehér, 2014).

Berdasarkan hasil temuan morel pada tahun 1960 melalui sifat totipotensi sel, tanaman yang sedikit dapat menghasilkan tanaman baru yang jumlahnya berpuluh ribu kali lipat dalam waktu singkat (Lestari, 2008).

Pertumbuhan *in-vitro* perlu di support oleh zat pengatur tumbuh, yang merupakan komponen penting dalam menyokong pertumbuhan tanaman. Zat Pengatur tumbuh mutlak ditambahkan dalam media kultur, karena berfungsi sebagai kontrol organogenesis dan morfogenesis dari eksplan dalam membentuk tunas, akar, dan kalus. Keseimbangan dari zat pengatur tumbuh beserta jenis yang digunakan harus disesuaikan dengan kondisi fisiologis tanaman, guna memacu arah pertumbuhan yang diinginkan dari eksplan (Lestari, 2008).

Terdapat tiga golongan zat pengatur tumbuh yang banyak digunakan dalam kultur jaringan yaitu: auksin, sitokinin, dan giberelin. Golongan auksin adalah zat pengatur tumbuh yang berfungsi dalam merangsang pertumbuhan meristematik ujung tunas/batang. Jenis auksin yang banyak di gunakan adalah 2,4-D (2,4-dichlorophenoxy acetic acid), IAA (indole acetic acid), NAA (naphtalene acetic acid), dan IBA (indole butiric acid). Sitokinin adalah zat pengatur tumbuh yang berfungsi dalam merangsang pertumbuhan ujung merestematik akar. Jenis sitokinin yang banyak digunakan adalah BAP (Benzile Amino Purin), thidiazuron, zeatin, kinetin. Giberelin merupakan zat pengatur tumbuh yang hanya digunakan pada tanaman keras, berguna untuk memecahkan dormansi pada tanaman tersebut. Jenis giberelin yang umum digunakan adalah giberelat acid (GA1, GA2, dan GA3) (Santner *et al.*, 2009).

Setelah eksplan tumbuh membentuk tanaman mini dalam media *in-vitro* perlu dilakukan aklimatisasi untuk menyesuaikan proses fisiologis dan adaptasi eksplan dari media *in vitro* ke alam terbuka sebagai lingkungan baru tempat hidupnya. Kondisi yang umum disesuaikan selama aklimatisasi adalah suhu, pH, kadar O₂. Lama aklimatisasi bervariasi tergantung jenis dan respons fisiologis tanaman (Lestari, 2008).

Berdasarkan keuntungan dari perbanyakan kultur jaringan maka, penelitian *in vitro* pada tanaman hias air tawar, tanpa lahan tanah, bebas patogen, serta sehat bagi ikan di dalam akuarium perlu dilakukan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan formula media kultur jaringan dan zat pengatur tumbuh yang tepat untuk multiplikasi dalam perakitan *mother plant* (tanaman induk) *Bacopa australis*, serta mendapatkan media terbaik untuk aklimatisasi.

BAHAN DAN METODE

Penelitian kultur *in-vitro* *B. australis* dilakukan di laboratorium sel dan jaringan Balai Besar Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Badan Penelitian dan Pengembangan, Kementerian Pertanian Republik Indonesia dari bulan Maret-Juli 2016. Penelitian aklimatisasi hasil kultur jaringan *B. australis* dilakukan di CV Cahaya Baru, Bintaro, Jakarta Selatan, pada bulan Juli-November 2016.

Persiapan Eksplan dan Zat Pengatur Tumbuh

Alat yang digunakan adalah pinset, batang skapel, petridish, pisau, gunting, dan botol kosong untuk media yang telah disterilkan dalam *autoclave* dengan suhu 121°C pada tekanan 17,50 psi. Bahan kultur (eksplan) yang digunakan adalah *single node* (batang satu buku) *Bacopa australis*. Media yang digunakan Media MS mengacu pada formula Murashige & Skoog (1962). Perlakuan yang diberikan adalah penambahan zat pengatur tumbuh a) 0,50 mg/L BAP + 0,50 mg/L kinetin, untuk pembelahan sel dan merangsang pembentukan pucuk/tunas dan akar; b) 0,50 mg/L BAP untuk pembentukan ujung batang; c) 0,50 mg/L 2,4-D; masing-masing dengan ulangan 10 kali untuk mendapatkan lebih banyak tunas. Bahan-bahan tersebut setelah ditimbang, selanjutnya diaduk sampai larut dan diukur pH-nya sampai menunjukkan 5,80. Agarosa, kemudian ditambahkan dan dimasak hingga mendidih dan solid. Setelah media selesai dibuat, dituangkan kedalam botol-botol yang telah steril, sebanyak 20 cc per botol, kemudian botol ditutup dengan aluminium foil dan dikencangkan sampai rapat dan disterilkan kembali dalam *autoclave* selama 30 menit pada suhu 121°C pada tekanan 17,50 psi. Media disimpan dulu minimal tiga hari untuk mengetahui apakah terjadi kontaminasi atau tidak sebelum dipakai.

Sterilisasi Eksplan

Pada penelitian ini digunakan sterilisasi bertingkat. Sterilisasi terhadap eksplan dilakukan dengan pencucian bahan kultur dengan sabun deterjen sebanyak 2x, dibilas dan dilanjutkan dengan sabun pencuci piring 1x kemudian dibilas sebanyak 3x. Bahan kultur kemudian dimasukkan dalam *laminair air flow cabinet* dan direndam dalam HgCl₂ 1% selama 30 detik, kemudian dibilas sebanyak 2x dengan aquades steril, sterilisasi dilanjutkan dengan kloroks 15% selama satu menit dan dibilas 2x dengan aquades steril, dilanjutkan dengan kloroks 10% selama satu menit, dibilas 2x dan dilanjutkan perendaman dengan cairan antiseptik selama satu menit lalu dibilas dengan aquades steril sebanyak tiga kali. Eksplan yang sudah disterilkan

dikultur pada media kultur yang telah disiapkan sebelumnya, setiap botol kultur berisi satu eksplan.

Pengamatan dilakukan dengan mengamati eksplan yang terkontaminasi dan ekspresi pertumbuhan pada setiap tanaman dan ekspresi kontaminasi yang terjadi selama pertumbuhan tanaman kultur. Pengamatan yang dilakukan hanya terhadap eksplan yang hidup dan mati.

Pembentukan *Planlet*

Planlet adalah tanaman mini yang tumbuh secara aseptik dalam kondisi terkontrol telah memiliki batang, akar, dan daun, serta sudah melakukan respirasi dan fotosintesis. Fotosintesis dilakukan dengan bantuan pencahayaan lampu neon dalam ruang simpan hasil kultur jaringan. *Planlet* terbentuk jika terjadi keseimbangan antara auksin dan sitokinin, zat pengatur tumbuh yang diberikan. Jika *planlet* dalam media perlakuan *in-vitro* belum terbentuk atau terbentuk kalus, maka kalus tersebut dipindahkan dalam media perlakuan yang membentuk *planlet*. Diagram alir pembentukan *planlet* disajikan pada Gambar 2.

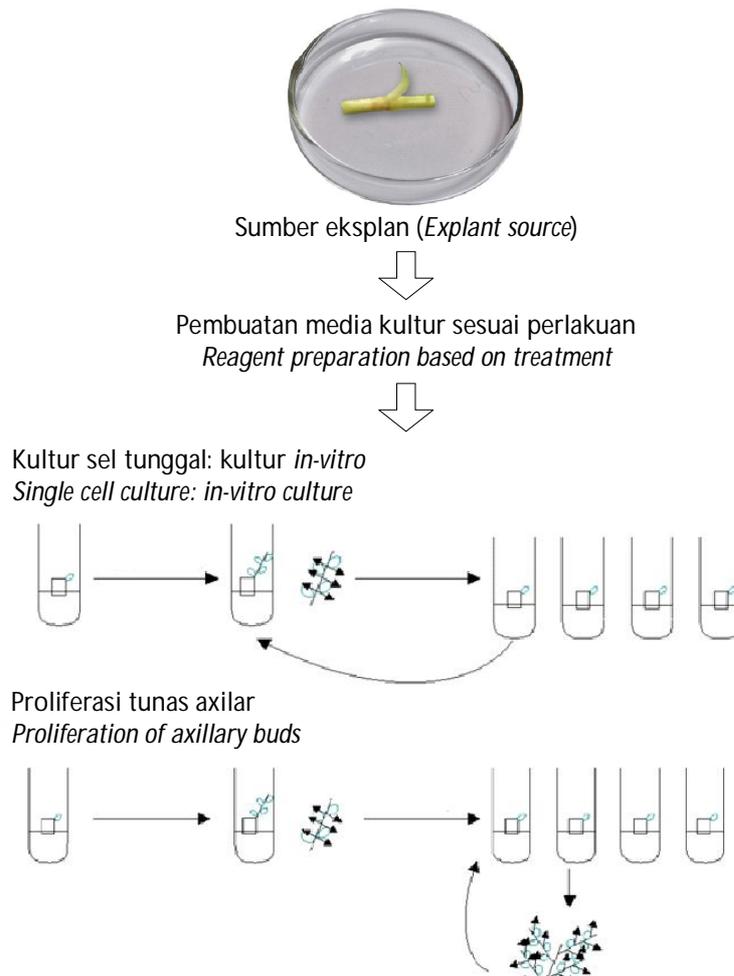
Secara singkat dapat dijelaskan metode pembentukan *planlet* adalah: media kultur dibuat tiga hari sebelum ditanam sesuai dengan perlakuan. Tujuannya untuk melihat apakah media bebas patogen atau terkontaminasi. Sumber eksplan disterilkan sesuai metode sterilisasi di atas. Setelah sumber eksplan steril langsung ditanam pada media tanam di dalam laminair air *flow cabinet*.

Pengaturan Cahaya Lampu Neon di Dalam Ruang Kultur

Lampu neon digunakan sebagai sumber cahaya untuk tanaman air berfotosintesis dan diatur waktu pemakaiannya seperti intensitas cahaya matahari. Penyinaran lampu neon 36 watt sebanyak dua buah pada setiap rak penyimpanan dilakukan selama 12 jam dan 12 jam berikutnya, lampu neon akan mati secara otomatis. Tanda keberhasilan dalam pembentukan *mother plant* ini adalah kultur aseptik berupa *plantlet* utuh (tanaman utuh) dengan batang akar dan daun. Pengamatan dilakukan secara visual dan didapatkan *planlet* aseptik sebagai *mother plant*. Tanaman dikultur selama 40 hari kemudian diaklimatisasi di lingkungan non *in-vitro*. Pertumbuhan dan pengamatan *planlet* utuh (tanaman utuh) dilakukan setiap minggu (7, 14, 21, 35 hari), untuk perlakuan A dengan mengamati pertumbuhan secara visual jenis kontaminasinya, serta membuang eksplan yang terkontaminasi dengan cara membuat non-aktif kontaminan dalam *autoclave*, agar tidak mencemari udara dan lingkungan laboratorium



Gambar 1. Eksplan *single node* (satu buku batang) *Bacopa australis*.
Figure 1. *Single node explant of Bacopa australis*.



Gambar 2. Diagram alir tahapan kultur *in-vitro*.
Figure 2. *Flow chart in-vitro propagation step*.

kultur jaringan. Pertumbuhan dan perkembangan eksplan *Bacopa australis*, pada medium perakaran diamati pada umur 20 dan 35 hari untuk perlakuan B, sedangkan regenerasi sel kalus pada perlakuan C diamati pada umur 14, 21, 28, dan 35 hari.

Aklimatisasi

Aklimatisasi adalah proses adaptasi tanaman hias air dari lingkungan *in-vitro* ke lingkungan *in-vivo*. Tahap ini merupakan tahapan yang kritis karena *planlet* berasal dari kondisi steril, tanpa fotosintesis dengan sumber hara yang tersedia cukup (*heterotrof*) harus dipindah ke kondisi autotrof. *Mother plant* yang telah mengalami pertumbuhan optimal dalam media kultur, diaklimatisasi di dalam akuarium air tawar. Guna melihat kekuatan tumbuh dan adaptasi *planlet* di lingkungan non *in-vitro*. Hal ini penting dilakukan untuk mengetahui media akuarium yang cocok dan berapa lama tanaman tahan di media akuarium guna menunjang desain *aquascape*.

Tanaman bisa diaklimatisasi saat pertumbuhan tanaman sudah memenuhi botol media tanaman kultur jaringan. Aklimatisasi di dalam akuarium bertujuan untuk mengkondisikan tanaman air agar kuat beradaptasi dengan lingkungan air tawar dan substratnya. Penyinaran tanaman tetap dilakukan dengan menggunakan lampu TL 25 watt untuk setiap akuarium selama 12 jam/hari. Perlakuan yang digunakan adalah 1) pasir silika + pupuk aqua soil amazonia, 2) pasir malang + pupuk aqua soil amazonia, 3) pasir silika + pupuk cair merek sera, 4) pasir malang + pupuk cair merek sera. Pada tahap aklimatisasi jumlah tanaman yang digunakan sebanyak 100 rumpun (*rhizome*) untuk setiap perlakuan media aklimatisasi. Aklimatisasi dilakukan pada akuarium berukuran 40 cm x 60 cm x 80 cm, dengan ketinggian media pasir malang dan pasir silika 10 cm, sedangkan pupuk *aqua soil amazonia* setinggi 5 cm ditambahkan pada perlakuan 1 dan 2. Pupuk amazonia diberikan hanya satu kali saja, karena pupuk ini bersifat padat dan *slow release* (penyerapan perlahan). Pada perlakuan dengan menggunakan pupuk cair (3 dan 4) media pasir silika dan pasir malang diatur dengan ketinggian 15 cm dan volume pupuk yang digunakan 20 mL per minggu. Volume air pada setiap perlakuan 100 liter. Aklimatisasi dilakukan selama empat bulan dari bulan Februari-Juni 2017. Pengamatan yang dilakukan terhadap ekosistem akuarium adalah pH air dalam akuarium. pH air pada ke-4 perlakuan sebelum diujikan diatur sama dan stabil yaitu 8. Pengecekan pH air dilakukan setiap minggu. Pengamatan yang dilakukan terhadap pertumbuhan tanaman antara lain jumlah anakan dalam tiap rumpun, panjang batang terpanjang dalam tiap rumpun dan panjang akar terpanjang dalam tiap rumpun dan pada

hari keberapa tanaman mulai mengalami kematian. Pengamatan pertumbuhan (jumlah anakan, panjang batang, panjang akar) dilakukan di akhir pengamatan pada minggu ke-16 setelah penanaman dalam akuarium. Pengamatan pertumbuhan di antara ketiga perlakuan (1, 2, dan 4) hasil aklimatisasi dianalisis secara Manova (Mathew, 1989).

HASIL DAN BAHASAN

Sumber eksplan berasal dari *single node* (satu buku batang), di mana bagian ini memberi jumlah tunas yang banyak dibandingkan dengan bagian akar dan daun. Satu botol kultur berisikan satu *single node*. Proses pembentukan *mother plant* tidak seragam, karena zat pengatur tumbuh yang digunakan memiliki perbedaan yang besar, maka pengamatan dilakukan secara visual dan didapatkan *planlet* aseptik sebagai *mother plant*.

Eksplan Terkontaminasi

Inisiasi sterilisasi *B. australis* cukup sulit, karena tanaman air ini memiliki jaringan sel batang yang sangat lunak, serta mengandung banyak air. Tahap sterilisasi dihadapkan pada berbagai macam kontaminasi. Hasil pengamatan diketahui kontaminasi tertinggi adalah jamur, kemudian bakteri. Usia material dan musim koleksi merupakan faktor penting yang menentukan keberhasilan sterilisasi aseptik. Desinfektan yang digunakan dengan konsentrasi tertinggi cukup untuk menghancurkan setiap kontaminasi mikroba tanpa merusak jaringan eksplan.

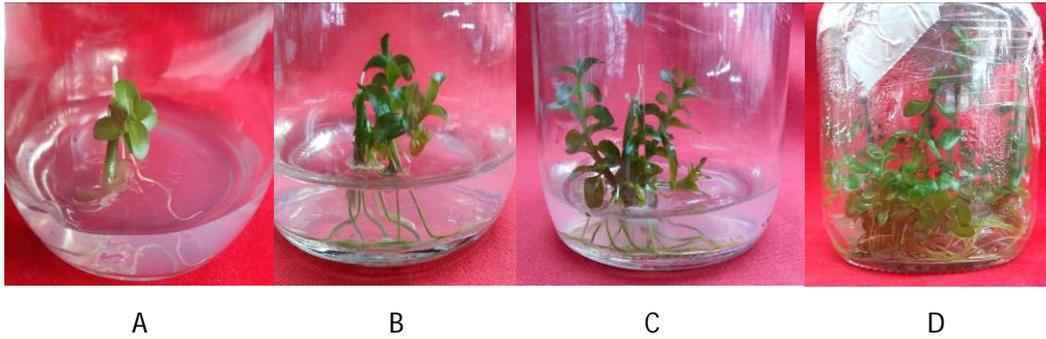
Sterilisasi dilakukan secara bertingkat dan hati-hati, akan tetapi masih terdapat kontaminasi berupa jamur, bakteri, kombinasi keduanya, dan eksplan mati karena proses sterilisasi. Eksplan yang tidak terkontaminasi, dijaga tetap steril sebagai kandidat *mother plant*, hingga pertumbuhan *planlet* memenuhi wadah kultur. Kontaminasi diduga terjadi karena jamur, bakteri yang berada dalam sel dari eksplan tanaman dan kontaminasi dari lingkungan luar seperti adanya kebocoran dari tutup wadah kultur.

Hasil Perlakuan *In-Vitro*

Hasil Perlakuan A (Media MS + 0,50 mg/L BAP + 0,50 mg/L Kinetin)

Planlet yang dihasilkan pada perlakuan A, berupa pembelahan sel dan merangsang pembentukan pucuk/tunas dan akar dapat dilihat pada Gambar 3.

Hasil pengamatan bahwa pada setiap perlakuan menunjukkan rata-rata waktu inisiasi adalah dua minggu setelah tanam, dengan rata-rata jumlah tunas waktu inisiasi adalah tiga tunas, jumlah tunas terus meningkat hingga jumlah tunas mencapai 50 tunas dalam 35 hari.



Gambar 3. Pertumbuhan dan perkembangan eksplan *Bacopa australis*, a) umur tujuh hari, b) umur 14 hari, c) umur 21 hari, d) umur 35 hari.
Figure 3. Growth and development of explants *Bacopa australis*, a) seven days old, b) 14 days old, c) 21 days old, d) 35 days old.

Hesar *et al.* (2011) menggunakan kinetin dalam pembentukan mother plant pada tanaman hias darat *Matthiola incana* dengan konsentrasi kinetin 0,5-2 mg/L adalah konsentrasi terbaik dengan jumlah tunas relatif tinggi dibandingkan konsentrasi lainnya.

Hasil Perlakuan B (Media MS + 0,50 mg/L BAP)

Hasil perlakuan B, untuk pembentukan ujung batang dapat dilihat pada Gambar 4.

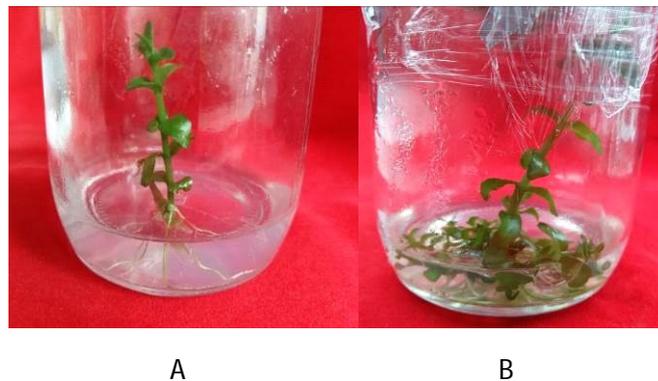
BAP (6-benzilaminopurin) dipilih karena adalah zat pengatur tumbuh golongan sitokinin yang merupakan generasi pertama sitokinin sintetik yang fungsinya untuk stimulasi dan regulator pertumbuhan dan pembelahan sel, pembentukan tunas dan ujung batang, sebagai inhibitor pada pernapasan tanaman (Da Silva,

2012). Pada perlakuan 0,50 mg/L BAP juga terbentuk perakaran (Gambar 4). Hal ini menunjukkan terdapat auksin endogen yang cukup tinggi di dalam jaringan *B. australis*. Penelitian ini sesuai dengan yang dilaporkan oleh Ribnicky *et al.* (1996) pada percobaannya dalam pembentukan embrio somatik wortel.

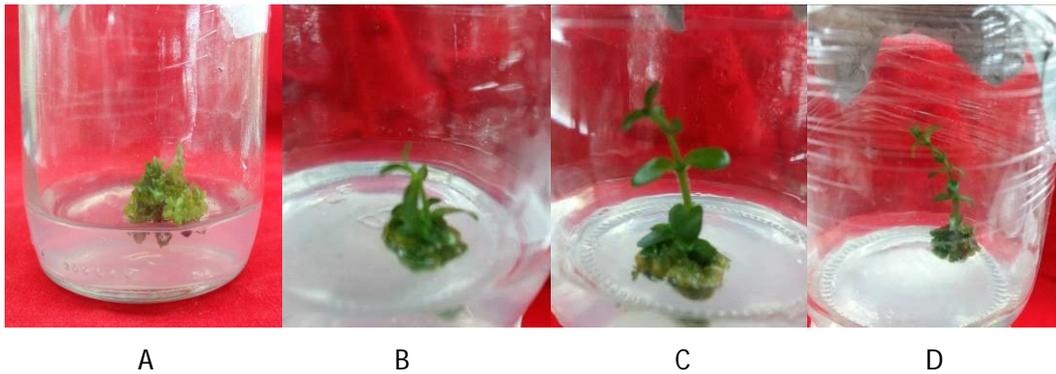
Hasil Perlakuan C (MS + 0,50 mg/L 2-4D)

Regenerasi sel kalus disajikan pada Gambar 5.

2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid) adalah golongan auksin paling kuat dan banyak digunakan dalam induksi kalus embriogenik pada banyak tanaman monokotil. 2,4-D tidak dapat diuraikan di dalam tubuh tanaman, sehingga terjadi konjugasi. Konjugasi



Gambar 4. Pertumbuhan dan perkembangan eksplan *Bacopa australis*, pada media perakaran a) umur 20 hari, b) umur 35 hari.
Figure 4. Growth and development of explants *Bacopa australis*, in root medium a) 20 days old, b) of 35 days old.



Gambar 5. Regenerasi sel kalus a). umur 14 hari, b). umur 21 hari, c). umur 28 hari, d). umur 35 hari.
 Figure 5. Callus cell regeneration a). 14 days old, b). 21 days old, c). 28 days old, d). 35 days old.

merupakan respons tanaman air *B. australis* yang diberikan 2,4-D; membentuk kalus sel yang terkonjugasi (Lestari, 2008).

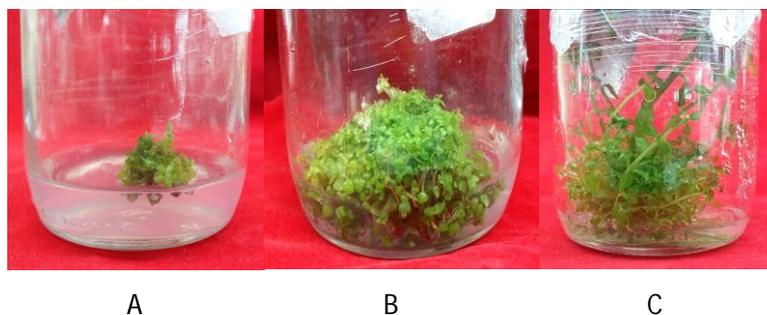
Pembentukan Planlet dari Kalus *Bacopa australis*

Pada tahapan pembentukan *planlet* dari kalus, dilakukan transfer media dari kalus yang tumbuh pada media C ke media A. Hasil terlihat pada Gambar 6.

Hasil dari perlakuan C terbentuk kalus, kalus dapat dijadikan *planlet* jika di ganti media pertumbuhannya yang mengandung akusin dan sitokinin dengan kombinasi yang sesuai (Haensch, 2007). Perlakuan A merupakan media perlakuan yang ideal untuk pembentukan *planlet*, oleh karena itu, kalus dari media C ditransfer ke media perlakuan A.

Pembentukan kalus memiliki tujuan penting yaitu untuk mendapatkan lebih banyak *planlet*, karena setiap sel kalus memiliki potensi pertumbuhan *planlet* (Haensch, 2007). Pada penelitian ini sel somatik dibuat secara tidak langsung melalui proses pembentukan kalus.

Perlakuan A (0,50 mg/L BAP + 0,50 mg/L kinetin) adalah media terbaik untuk pembentukan *planlet*. Haensch (2007) melaporkan regenerasi pembentukan *planlet* dari kalus pada tanaman *Pelargonium x domesticum* cv. *Madame Layal* dengan BAP terjadi dalam empat minggu. Zat pengatur tumbuh BAP, memunculkan embrio dari tahap utama perbanyakan. Regenerasi dari kalus menjadi *planlet* berkembang dari tahap globular sel-sel sitoplasma yang padat. Penambahan kinetin mendukung pembelahan sel dan pembentukan organ lebih cepat terjadi. Minggu



Gambar 6. Transformasi kalus dari (perlakuan C) ke media induksi *planlet* (perlakuan A). a) kalus umur dua minggu, b) Kalus umur empat minggu, c) kalus setelah dipindah pada media perlakuan A.
 Figure 6. Callus transformation from (treatment C) to *planlet* induction at media (treatment A). a) callus two weeks old, b) callus four week old, c) callus after transformation to medium A.

keempat setelah transfer media, tunas mulai bermunculan dari sel kalus pada media 0,50 mg/L BAP + 0,50 mg/L kinetin, dan pada minggu kelima akar mulai tumbuh.

Aklimatisasi

Hasil pengamatan pH di dalam akuarium air tawar pada perlakuan-3 dan 4 mempunyai pH 8,0; sedangkan pada perlakuan-1 dan 2 mempunyai nilai pH 8,2. Tingkat kehidupan tanaman mencapai 100% pada perlakuan-1, 2, dan 4, kecuali perlakuan 3 (pasir silika + pupuk cair) di mana pada minggu keenam setelah aklimatisasi tanaman mulai mengalami kematian sebanyak 10 tanaman mati perminggu, sehingga pada minggu ke-12 setelah aklimatisasi seluruh tanaman pada perlakuan-3 mati 100% (Gambar 7).

Hasil pengujian statistik terhadap perlakuan yang diberikan pada proses aklimatisasi disajikan pada Tabel 1.

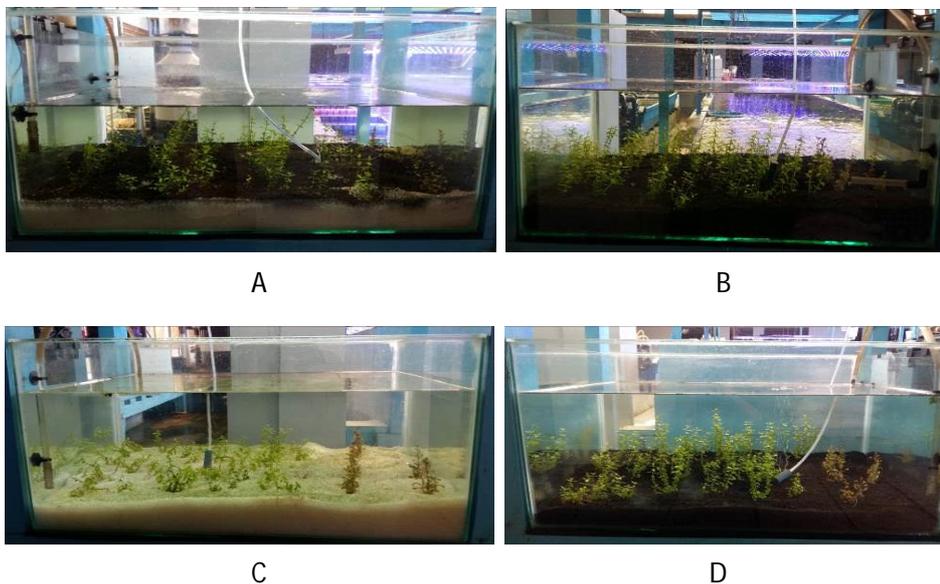
Perlakuan-1 (pasir silika + pupuk *aqua soil amazonia*) adalah terbaik untuk pertumbuhan reproduksi berupa jumlah anakan dan bertambah panjang akar, sedangkan perlakuan-2 (pasir malang + pupuk *aqua soil amazonia*) baik untuk penampilan pertumbuhan morfologi yaitu bertambahnya panjang

batang. Hasil uji multivariat berdasarkan Wilk's Lambda sebesar 0,098 dan $p = 0.000$ menunjukkan adanya perbedaan pertumbuhan yang diamati dari setiap perlakuan yang diberikan.

Meningkatnya jumlah anakan dan panjang akar akan memperlihatkan bahwa penyerapan nutrisi dari pupuk aqua soil amazonia sangat efektif dan tekstur pada pasir silika yang berongga memberikan kebebasan dan kemudahan pada pertumbuhan anakan dan panjang akar.

Menurut Walstad (2003), tanaman air tumbuh baik pada sedimen atau tanah dibandingkan pasir. Tanah mendukung secara maksimal pertumbuhan tanaman air. Kasus lainnya tanaman air tumbuh baik pada sedimen dengan 24% bahan organik. Secara umum, tanaman air tumbuh baik di berbagai tanah-liat atau tanah lempung dengan beberapa bahan organik. Pada percobaan lain yang dilakukan) pada spesies *Vallisneria spiralis* tumbuh dengan baik pada substrat alkalin (pH 8,0) sebagai top soil (tanah lapisan atas) (Walstad, 2003).

Walstad (2003) melakukan penelitian pada tanaman *B. monnieri* yang tergolong *hard water plant* dan *B. carolinana* yang tergolong *softwater plant* menggunakan media dengan kalsium (Ca) dan tanpa



Gambar 7. Aklimatisasi hasil kultur jaringan pada akuarium air tawar umur enam minggu. (A) pasir silika + pupuk *aqua soil amazonia*, (B) pasir malang + pupuk *aqua soil amazonia*, (C) pasir silika + pupuk cair, (D) pasir malang + pupuk cair.

Figure 7. Tissue culture acclimatization results in freshwater aquariums at six weeks old. (A) silica sand + aqua soil amazonia fertilizer, (B) malang sand + aqua soil amazonia fertilizer, (C) silica sand + liquid fertilizer, (D) malang sand + liquid fertilizer.

Tabel 1. Analisis data pertumbuhan *Bacopa australis* dalam media aklimatisasi
 Table 1. Data analysis of *Bacopa australis* growth in acclimatization medium

Perlakuan Treatments	Rataan jumlah anakan Average number of tillers	Rataan panjang batang Average of stem length (cm)	Rataan panjang akar Average of root length (cm)	Jumlah total individu Total number of individu
1	4.27 ± 2.65	15.1170 ± 6.14341	3.9404 ± 1.80984	47
2	3.61 ± 1.90	16.8426 ± 5.57524	3.5926 ± 1.50494	54
4	1.98 ± 1.44	15.1218 ± 5.56204	1.6603 ± 0.94145	78
Nilai F F value	22.828 ^a	1.708 ^b	50.901 ^c	
Nilai probability P-value	0.000	1,184	0.000	

kalsium. *B. monnieri* yang ditambahkan Ca dapat tumbuh baik, dan mengalami pertumbuhan tidak baik tanpa Ca, sedangkan *softwater plant* (*B. caroliniana*) dapat tumbuh baik dan normal pada kedua media tersebut.

KESIMPULAN

Perbanyak *B. australis* secara *in-vitro* yang menggunakan media MS dengan penambahan 0,5 mg/L BAP + 0.5 mg/L kinetin (perlakuan A) memberikan perlakuan terbaik. Media aklimatisasi terbaik dari hasil kultur *in-vitro* dapat dilakukan dengan menggunakan pasir malang yang ditambah pupuk *aqua soil amazonia* (perlakuan-2) untuk menghasilkan tanaman induk *B. australis*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini terlaksana berkat kerja sama antara Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Ikan Hias (BPPBIH) Depok dengan Balai Besar Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian (BBBIOGEN) Bogor. Terima kasih yang sebesar-besarnya kami sampaikan pada Kepala BBBIOGEN Bapak Ir. Mastur, Ph.D. dan seluruh *civitas*-nya atas kerja sama dan bantuan fasilitas Laboratorium Sel dan Jaringan pada penelitian tanaman air ini. Terima kasih kami sampaikan kepada Bapak Prof. Dr. Ir. Hari Eko Irianto, M.Sc. Terima kasih kami kepada pimpinan dan seluruh staf CV Cahaya Baru atas dukungan sarana prasarana dan kerja sama dalam aklimatisasi tanaman air *Bacopa australis*. Terima kasih kami kepada Bapak Wawan yang telah membantu dalam penyediaan media kultur dan sterilisasi bahan dan alat.

DAFTAR ACUAN

Da Silva, J.A.T. (2012). Is BA (6-Benzyladenine) BAP (6 Benzyl amino purin)?. *The asian and Australasian Journal of plant science Biotechnology*, 6 (special issue 1), 121-123.

Fehér, A. (2014). Somatic embryogenesis–stress-induced remodeling of plant cell fate. *BBA-Gene Regulatory Mechanisms*, p. 1-94. doi: 10.1016/j.bbagr.2014.07.005.

Hesar, A.A., Kaviani, K., Tarang, A., & Zanjani, S.B. (2011). Effect of different concentrations of kinetin on regeneration of ten weeks (*Matthiola incana*). *Plant Omics Journal*, 4(5), 236-238.

Haque, S.M. & Ghosh, B. (2013). *In-vitro* completion of sexual life cycle: production of R1 plants of *Ipomoea quamoclit* L. *Propag. Orn. Plants*, 13, 19–24.

<http://tropica.com/fr/guide/r%C3%A9ussir-son-aquarium/engrais-et-co2/>. Acces 1 Maret 2017.

Haensch K.T. (2007). Influence of 2,4-D and BAP on callus growth and the subsequent regeneration of somatic embryos in long-term cultures *Pelargonium x domesticum* cv. Madame Layal. *Electronic Journal of Biotechnology*, 10(1), 1-9. doi: 10.2225/vol 10-issue 1-fulltext-9.

Kie³kowska, A. & Havey, M.J. (2012). *In-vitro* flowering and production of viable pollen of cucumber. *Plant Cell Tissue Organ Cult*, 109, 73–82.

Lestari, E.G. (2008). Kultur jaringan menjawab persoalan pemenuhan kebutuhan akan peningkatan kualitas bibit unggul dan perbanyak secara besar-besaran. *Akademia*, 60 hlm.

Mathew, T. (1989). Manova in the multivariate components of variance model. *Journal of Multivariate Analysis*, 29, 30-38.

Murashige, T. & Skoog, F. (1962). A revised for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant*, 15, 473-497.

Nugraha, M.F.I., Muhammad, Y., & Sri, C. (2016). Karakterisasi dan domestikasi kandidat hidro-vegetasi akuarium air tawar pada berbagai jenis media tanam untuk komersialisasi dan konservasi.

- Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur*. Pusat penelitian dan pengembangan perikanan, hlm. 549-560.
- Ribnicky, D.M., Ilic, N., Cohen, J.D., & Cooke, T.J. (1996). The effects of exogenous auxins on endogenous indole-3-acetic acid metabolism (the implications for carrot somatic embryogenesis). *Plant Physiology*, 112(2), 549-558. doi: <http://dx.doi.org/10.1104/pp.112.2.549>.
- Santner, A., Calderon-Villalobos, L.I.A., & Estelle, M. (2009). Plant hormones are versatile chemical regulators of plant growth. *Nature Chemical Biology*, 5(5), 301-307. doi: 10.1038/nchembio.165.
- Verdeil, J-L., Alemanno, L., Niemenak, N., & Tranbarger, T.J. (2007). Pluripotent versus totipotent plant stem cells: dependence versus autonomy?. *Trends in Plant Science*, 12(6), 245-252. doi: 10.1016/j.tplants.2007.04.002.
- Walstad, D. (2003). Ecology of the planted aquarium. A practical manual and scientific treatise for the home aquarist. Nort carolina USA: Echinodorus publishing, Chapel Hill, 194 pp.