

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Botani dan Morfologi

Menurut Indonesian Botanic Garden (1998) *Eurycoma longifolia* Jack memiliki beberapa nama lokal antara lain: penawar pahit, bedara pahit, bedara puteh, tongkat ali, lempedu pahit, payung ali, tongkat baginda, muntah bumi, petala bumi, akar jangat seinang, tungke ali, pasak bumi (Malaysia, Sumatera, Kalimantan), dan tung saw (Thailand). Menurut *Angiosperm Phylogeny Group*, klasifikasi *Eurycoma longifolia* Jack. Berdasarkan klasifikasi tumbuhan yaitu termasuk ke dalam Divisi : Magnoliophyta, Kelas : Magnoliopsida, Ordo : Sapindales, Famili : Simaroubaceae, Genus : *Eurycoma*, Spesies : *Eurycoma longifolia* Jack.

Indonesian Botanic Garden (1998) menyatakan pasak bumi umumnya berbentuk semak, atau pohon kecil yang tingginya jarang mencapai 10 meter, tetapi ada juga yang tingginya mencapai lebih dari 15 meter dan diameter mencapai 15 cm. Batang umumnya tidak bercabang, tetapi ada juga yang bercabang sedikit menyerupai payung dengan kedudukan daunnya melingkar (*rosette*), batangnya kokoh berwarna coklat keabu-abuan, licin. Daunnya majemuk menyirip, jumlahnya ganjil, panjang 0,3-1 meter dengan anak daun berjumlah 20-30 pasang, berbentuk oblong, bergelombang, warna anak daunnya hijau tua berukuran 5-25 cm x 1,25-3 cm, pinggirnya bergelombang, tangkai daunnya berwarna coklat kehitaman. Bunga bersifat *monoceous* atau *dioceous*, tetapi biasanya dijumpai sebagai *dioceous*. Berwarna merah jingga, lebar bunga 0,6 cm, berbulu halus dengan benjolan

kelenjar di ujungnya, ada 2 (dua) kelompok tumbuhan yaitu tumbuhan berbunga jantan (tidak menghasilkan buah) dan berbunga betina (mampu menghasilkan buah). Buah panjang 1,25 cm, berbentuk oblong, ketika masak warnanya menjadi kuning kemudian memerah.

Berdasarkan sifat-sifatnya pasak bumi dikelompokkan bersama dengan marga *quassia*, *picrosma*, *brucea* dan *soulamea* dalam suku *Simarubaceae* yang terdiri dari tumbuhan yang mengandung substansi pahit (*bitter plant*).

## **2.2. Habitat Pasak Bumi**

Menurut Rayan (1996) tumbuhan pasak bumi dijumpai pada tanah masam, berpasir dan beraerasi baik pada ketinggian dibawah 1200 mdpl. Biasanya ditemukan pada hutan primer dan sekunder dengan jenis *Dipterocarpaceae* dan juga pada hutan kerangas dan sub montana. Heyne (1987) mengatakan pasak bumi merupakan pohon pantai yang bagus menarik, tingginya hingga 6 m, berasal dari bagian barat nusantara, tidak ditemukan di Jawa.

## **2.3. Manfaat Pasak Bumi**

Tumbuhan pasak bumi telah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat tradisional untuk keperluan penyembuhan berbagai penyakit. Hampir seluruh bagian tumbuhan terutama pada bagian akar mengandung substansi pahit yang dapat digunakan untuk obat, sehingga tumbuhan pasak bumi harus dicabut. Akar tumbuhan ini dicampur dengan tumbuhan obat lain seperti kayu manis dan digunakan untuk tonik penyehat di Sabah. Selain itu di Malaysia

kulit akarnya digunakan juga sebagai penawar demam, penyembuh luka-luka di gusi atau gangguan cacing serta tonikum setelah melahirkan. Kulit batang digunakan untuk koagulan darah setelah melahirkan, sedangkan di Kalimantan dan Sabah kulit batang digunakan untuk mengobati nyeri pada tulang. Daun pasak bumi yang muda dapat dimakan untuk pengobatan sakit perut. Di Vietnam bunga dan buah pasak bumi digunakan untuk obat desentri. Menurut sifat fisis, mekanis dan keawetan, kayu pasak bumi memiliki berat jenis 0,65, kelas awet 4-5, dan kelas kuat II. Kayu golongan ini dapat digunakan untuk keperluan konstruksi dan mebel (Tanaman Obat Tradisional, 2011).

#### **2.4. Perbanyak Pasak Bumi**

Pasak bumi terdiri dari 2 tipe tumbuhan yaitu *dioceous* dan *monoceous*. Jenis *dioceous* tergolong unik karena terdiri dari pohon jantan dan pohon betina. Pohon jantan dapat menghasilkan buah namun gugur pada saat muda selain itu memiliki bunga yang dapat tumbuh namun putiknya steril, sedangkan pohon betina mampu menghasilkan benih dan memiliki benang sari namun steril, oleh karena itu proses penyerbukannya kemungkinan dibantu oleh serangga dan penyerbukan silang (Padua, 1999).

Pada beberapa kasus proses penyerbukan dan pembuahan terjadi pada saat bunga masih belum membuka (penyerbukan tertutup/ kleistogami). Letak benang sari yang lebih rendah daripada kepala putik menyebabkan proses penyerbukan pada tipe ini sulit dilakukan, proses penyerbukan hanya terjadi ketika ada vektor yang dapat menggerakkan bunga sehingga putik dan benangsari bertemu (Hussein *at al.*, 2005).

Pasak bumi memiliki tipe benih rekalsitran. Persentase perkecambahan

pasak bumi yang terjadi di habitat alamnya sangat rendah serta membutuhkan waktu yang cukup lama, hal ini disebabkan karena adanya embrio yang belum cukup masak pada saat pemencaran (Hussein *et al.*, 2005).

Budidaya pasak bumi masih sangat sedikit dilaporkan, sehingga masih minim informasi mengenai persentase kecambahannya, kualitas bibit yang dihasilkan dan parameter lainnya.

## **2.5. Kultur Jaringan**

Menurut Darmono (2003); Hendaryono dan Wijayani (1994); serta Sandra dan Medi (2003) manfaat yang bisa didapatkan dari kultur jaringan antara lain bibit dapat diperbanyak dalam jumlah besar dan relatif cepat, bibit unggul, cepat berbuah serta tahan hama dan penyakit, seragam atau sama dengan induknya, tetapi dapat juga menimbulkan keberagaman, efisiensi tempat dan waktu, tidak tergantung musim, dapat diperbanyak secara kontinyu, untuk skala besar biaya lebih murah, dan cocok untuk tanaman yang sulit beregenerasi.

Teknik mikropropagasi atau *in vitro* sering digunakan untuk menghasilkan tumbuhan yang *true-to-type* atau disebut klon (*clone*) atau sama dengan tumbuhan asalnya. Istilah klon (*clone*) pertama kali digunakan oleh Webber pada tahun 1903 untuk tumbuhan yang diperbanyak secara vegetatif. Tumbuhan hasil perbanyakan secara vegetatif dianggap bukan suatu individu baru tapi hanya bagian dari tumbuhan asal dan bersifat sama. Kemampuan tumbuhan untuk menghasilkan klon tersebut akan menjadi keuntungan dalam konservasi tumbuhan tertentu atau perbanyakan untuk menghasilkan bibit dengan sifat yang diinginkan seperti induknya (Wattimena *et al.*, 1992).

Ada beberapa prinsip-prinsip dasar kultur jaringan yang perlu dilakukan.

Pertama adalah mengisolasi atau mengambil bagian tumbuhan dari tumbuhan induk baik berupa organ, jaringan atau sel. Kedua, memberikan lingkungan yang tepat untuk pertumbuhan bagian tumbuhan tersebut yaitu dengan menanam pada media dan kondisi yang tepat. Terakhir adalah perbanyakan dilakukan di kondisi yang steril atau aseptik. Tempat melakukan kultur jaringan harus bebas dari bakteri, fungi, alga atau kontaminan lain (Giri *et al.*, 2004).

Macam media yang digunakan untuk kultur jaringan tanaman berkayu sangat bervariasi, mulai dari MS (Bhalla *et al.*, 2009; Iriondo *et al.*, 1995; Girijashankar, 2011; Hedayat *et al.*, 2009), WPM (Karsinah, *at al.*, 1995), sampai media yang spesifik untuk tanaman tertentu seperti zaitun dengan *Olive Medium* Ali *et al.* (2009), dan bermacam-macam kombinasi zat pengatur tumbuh yang digunakan baik pada media MS atau WPM (Giri *et al.*, 2004).

Metode perbanyakan yang dapat digunakan untuk tumbuhan pasak bumi adalah perbanyakan vegetatif secara *in vitro* atau mikropropagasi. Metode ini merupakan teknik yang lebih cepat dalam menghasilkan stok tanaman klonal dan konservasi plasma nutfah serta secara lebih cepat (Iriondo *et al.*, 1995). Berdasarkan penelitian Hussein *et al.* (2005), mampu menginduksi akar dan tunas pasak bumi secara *in vitro* sebanyak 90% dari eksplan mata tunas hasil perkecambahan di rumah kaca menggunakan media MS basal dengan penambahan IBA dan kinetin.

Kultur jaringan tumbuhan menjadi suatu alternatif yang dilakukan untuk tujuan meningkatkan produk-produk metabolit sekunder yang mempunyai nilai komersial tinggi tetapi sulit untuk diperoleh secara pertanian konvensional. Teknik ini dapat dikembangkan untuk produksi biomassa dan produk-produk

metabolit secara besar-besaran, misalnya dengan menggunakan bioreaktor. Dengan diketahuinya potensi nilai perobatan dari tumbuhan *Eurycoma longifolia* Jack, maka penelitian dalam kultur jaringan sangat perlu dilakukan. Banyak faktor yang dapat mempengaruhi inisiasi, proliferasi, dan sintesis metabolit sekunder di dalam kultur kalus, misalnya genotipe tumbuhan, komposisi medium dan faktor-faktor fisik dalam pertumbuhan sel seperti cahaya dan suhu. Pada penelitian yang dilakukan oleh Mahmud *et al.* (2006), penggunaan eksplan daun, petiol, dan batang dari perkecambahan *in vitro* berumur 10 minggu dikultur dengan orientasi mendatar dalam tabung uji (25 X 150 mm) yang mengandung medium padat MS dengan kombinasi 6-benzil aminopurin atau BAP (0,00–44,40  $\mu$ M) dan asam-naftalenasetat atau NAA (0,00–53,76  $\mu$ M) mampu menginduksi kalus dengan kandungan alkaloid yang tinggi.

### **2.5.1. Lingkungan Fisik Kultur**

Faktor-faktor lingkungan yang berpengaruh terhadap perkembangan kultur jaringan antara lain pH, kelembaban, cahaya dan temperatur. Faktor lingkungan tersebut berpengaruh terhadap proses pertumbuhan dan diferensiasi sel-sel tanaman yang dikembangkan dengan teknik kultur jaringan (Ariana, 2005).

Bentuk fisik medium kultur jaringan berupa medium padat, semi padat dan cair. Kondisi fisik medium dapat berpengaruh pada pertumbuhan kultur dan laju pembentukan tunas (Wattimena *et al.*, 1992). Keberhasilan dalam penggunaan metode kultur jaringan sangat bergantung pada media yang digunakan. Media kultur jaringan tanaman menyediakan tidak hanya unsur hara makro dan mikro, tetapi juga karbohidrat yang pada umumnya berupa gula untuk menggantikan karbon yang biasanya didapat dari atmosfer melalui proses fotosintesis. Hasil yang

lebih baik akan dapat kita peroleh bila ke dalam media tersebut ditambahkan vitamin-vitamin, asam amino dan zat pengatur tumbuh (ZPT).

Pengaturan pH media selain memperhatikan kepentingan fisiologi sel, juga harus mempertimbangkan faktor-faktor: 1) Kelarutan dari garam-garam penyusun media, 2) Pengambilan dari zat pengatur tumbuh dan garam-garam lain, dan 3) Efisiensi pembekuan agar (Gunawan, 1987). Sampai saat ini belum ada penelitian mengenai pH optimum spesifik setiap tanaman. Namun secara umum dapat dikatakan bahwa kebanyakan bagian tanaman, tumbuh dengan baik pada media yang mengandung *buffer* lemah pada pH antara 5-6 (Wetherell, 1982).

Ada tiga hal dalam pemberian cahaya yang mempengaruhi pertumbuhan dan kultur secara *in vitro*, yaitu: panjang gelombang cahaya, intensitas cahaya, dan *photoperiodisme*. Pertumbuhan organ tanaman secara *in vitro* yang optimal seringkali memerlukan adanya cahaya. Namun, pada awal proses pembelahan sel dari eksplan yang dikulturkan dan pertumbuhan kalus kadang-kadang dihambat oleh adanya cahaya.

Suhu juga memegang peranan penting dalam mempengaruhi laju dan perbanyakan jaringan. Pada banyak tanaman, jaringannya tumbuh baik pada 17<sup>0</sup>C sampai 32<sup>0</sup>C. Kebanyakan suhu ruang inkubasi dalam kultur *in vitro* diatur sama, baik siang maupun malam. Namun, ada juga yang menggunakan suhu ruang inkubasi yang disesuaikan dengan suhu alami tempat tumbuh tanaman tersebut secara *in vitro*, pada siang hari diberikan suhu lebih tinggi dari rata-rata, dan pada malam hari lebih rendah 6<sup>0</sup>C sampai 8<sup>0</sup>C (Wattimena *et al.*, 1992).

Kelembaban udara penting untuk mencegah kultur mengalami kekeringan. Jika kelembaban ruangan rendah maka penguapan air dari media kultur akan

terlalu besar. Dan sebaliknya, jika kelembaban ruangan tinggi akan menyebabkan terjadinya pertumbuhan mikroba di luar wadah kultur atau alat-lat sehingga akan menaikkan derajat kontaminasi. Kelembaban relatif ruang tumbuh kultur jaringan kurang lebih 70%, di dalam botol menghendaki kelembaban yang lebih tinggi (Wetherell, 1982).

### **2.5.2. Eksplan**

Eksplan adalah potongan/bagian jaringan yang diisolasi dari tanaman yang digunakan untuk inisiasi suatu kultur *in vitro* (Sandra dan Karyaningsih 2000). Menurut Hendaryono dan Wijayani (1994) bahwa ekplan yang dipilih harus merupakan bagian-bagian tanaman yang mempunyai sel aktif membelah (sel meristem), karena pada bagian-bagian sel ini mengandung hormon tanaman yang baik untuk membantu pertumbuhan. Pengambilan eksplan dari jaringan dewasa (*in deferensiasi*) dalam waktu lama tidak akan terbentuk kalus, sebab kemampuan untuk membentuk jaringan tidak ada. Meskipun dari tanaman dewasa ini terjadi penambahan volume, tetapi tidak terjadi penambahan sel sebab tidak mengalami pembelahan sel. Sedangkan pada jaringan meristem akan terjadi penambahan sel.

Pada prinsipnya eksplan dapat diambil dari semua bagian tanaman baik dari jaringan akar, batang, dan daun. Biasanya sebagai bahan eksplan dipilih bagian-bagian jaringan yang belum banyak mengalami perubahan bentuk dan kekhususan fungsi atau dipilih bagian-bagian yang bersifat meristematik. Pemakaian tunas pucuk, tunas samping, tunas bunga, daun bunga, daun, cabang muda, akar, umbi, bagian-bagian embrio, anther, dan beberapa bagian lainnya sering dilakukan dalam kultur jaringan beberapa tanaman tertentu. Ukuran eksplan yang dipakai bervariasi tergantung tujuan pembiakannya. Eksplan ukuran

besar lebih mudah terkontaminasi, sedangkan yang kecil lebih sedikit kemungkinannya terkena kontaminasi. Namun, eksplan yang kecil mempunyai persentase kematian jaringan yang tinggi dibandingkan eksplan yang lebih besar (Wattimena *et al.*, 1986).

Penggunaan eksplan daun muda pada kultur jaringan telah banyak digunakan sebagai perbanyakan tanaman dan produksi metabolik skunder. Pada penelitian Yelnitis dan Komar (2010), telah berhasil menginduksi kalus embriogenik menggunakan eksplan daun ramin pada media MS dengan penambahan beberapa konsentrasi 2,4-D. Berdasarkan hasil penelitian Syahid *et al.* (2010), kandungan tannin pada semua perlakuan kalus daun jati belanda secara *in vitro* sebanyak 3,72 – 4,27% lebih tinggi dari pada tannin yang terdapat pada daun jati belanda yang ditanam secara konvensional sebanyak 2,24%.

### **2.5.2. Sterilisasi Eksplan**

Menurut Nugroho dan Sugito (2002), sterilisasi adalah proses untuk mematikan atau menonaktifkan spora dan mikroorganisme sampai ke tingkat yang tidak memungkinkan lagi berkembang biak atau menjadi sumber kontaminan selama proses perkembangan berlangsung.

Menurut Hendaryono dan Wijayani (1994) sterilisasi eksplan dapat dilaksanakan dengan dua cara, yaitu secara mekanik dan secara kimia. Sterilisasi eksplan secara mekanik digunakan untuk eksplan yang keras (misalnya tebu, biji salak, dan sebagainya) atau berdaging (misalnya wortel, umbi, dan sebagainya), yaitu dengan membakar eksplan tersebut di atas lampu spiritus sebanyak tiga kali. Sedangkan sterilisasi eksplan secara kimia digunakan untuk eksplan yang lunak

(jaringan muda) seperti daun, tangkai daun, anther, dan sebagainya. Bahan-bahan kimia yang sering digunakan untuk sterilisasi permukaan eksplan antara lain:

#### 1. Sodium hipoklorit

Konsentrasi untuk sterilisasi tergantung dari kelunakan eksplan, dapat 5%-20% dan waktunya antara 5-10 menit.

#### 2. Alkohol 70%

Alkohol lebih banyak diperdagangkan dalam bentuk alkohol 96%. Jamur biasanya mati dengan alkohol 70%, sedangkan dengan alkohol 96% masih tetap hidup. Dari kedua bahan kimia tersebut, perlakuan sterilisasinya biasanya dilakukan di dalam *laminar air flow cabinet*. Untuk perlakuan sterilisasi di luar *laminar air flow cabinet* biasanya menggunakan fungisida dan bakterisida.

Fungisida adalah bahan yang mengandung senyawa kimia beracun dan dapat digunakan untuk memberantas dan mencegah fungi/cendawan/jamur. Fungisida yang digunakan untuk sterilisasi merupakan fungisida sistemik. Fungisida sistemik adalah senyawa kimia yang bila diaplikasikan pada tanaman akan bertranslokasi ke bagian lain. Bahan aktif fungisida sistemik yang bisa digunakan antara lain benomil. Bakterisida adalah bahan yang mengandung senyawa kimia beracun dan bisa digunakan untuk memberantas dan mencegah bakteri. Bahan aktif bakterisida sistemik yang bisa digunakan antara lain streptomycine sulfat (Wudianto 2002).

Deterjen digunakan untuk mencuci eksplan sekaligus menghilangkan mikroba-mikroba yang menempel pada permukaan eksplan. Pencucian biasanya menggunakan deterjen secukupnya selama 3-7 menit. Pencucian yang terlalu lama

atau buih deterjen yang terlalu kental dapat merusak jaringan (Hendaryono dan Wijayani 1994).

Menurut Wattimena *et al.* (1992), prinsip dasar sterilisasi eksplan adalah mensterilkan eksplan dari berbagai mikroorganisme, tetapi eksplannya tidak ikut mati. Setiap tanaman memerlukan perlakuan khusus sehingga sebelum mengkulturkan tanaman baru perlu melakukan percobaan sterilisasi. Sebagai patokan, konsentrasi bahan dan waktu yang diperlukan untuk sterilisasi eksplan sebagai berikut :

### 1. Sterilisasi Ringan

Eksplan direndam dalam cairan pemutih pakaian 20% selama 10 menit, lalu bilas dengan air steril. Setelah itu, eksplan direndam dalam cairan pemutih pakaian 15% selama 10 menit, lalu bilas dengan air steril. Terakhir, eksplan direndam dalam cairan pemutih pakaian 10% selama 10 menit, lalu bilas dengan air steril tiga kali.

### 2. Sterilisasi Sedang

Eksplan direndam dalam HgCl<sub>2</sub> 0.1-0.5 mg/l selama 7 menit, lalu bilas dengan air steril. Setelah itu, eksplan direndam dalam cairan pemutih pakaian 15% selama 10 menit, lalu bilas dengan air steril. Terakhir, eksplan direndam dalam cairan pemutih pakaian 10% selama 10 menit, lalu bilas dengan air steril tiga kali.

### 3. Sterilisasi Keras

Eksplan direndam dalam HgCl<sub>2</sub> 0.1-0.5 mg/l selama 10 menit, lalu bilas dengan air steril. Setelah itu, eksplan direndam dalam alkohol 90% selama 15

menit, lalu bilas dengan air steril. Terakhir, eksplan direndam dalam cairan pemutih pakaian 20% selama 10 menit, lalu bilas dengan air steril tiga kali.

Menurut Gunawan (1987) ada sekitar sepuluh jenis bahan yang digunakan dalam sterilisasi permukaan, yaitu kalsium hipoklorit, natrium hipoklorit, hidrogen peroksida, gas klorin, perak nitrat, merkuri klorid, betadin, fungisida, antibiotik, dan alkohol.

Masalah yang sering mengganggu dalam pekerjaan *in vitro* adalah membuat dan menjaga kondisi aseptik, baik kondisi lingkungan maupun kondisi eksplannya. Oleh karena itu bila memindah-tanamkan bagian tanaman dari satu wadah ke wadah yang lain, jangan menyentuh permukaan bagian dalam dari wadah dengan tangan atau bagian alat yang tidak steril (Wetherell 1982).

Menurut Gunawan (1987), setiap bahan tanaman mempunyai tingkat kontaminasi permukaan yang berbeda, tergantung dari jenis tanamannya, bagian tanaman yang dipergunakan, morfologi permukaan (misalnya berbulu atau tidak), lingkungan tumbuhnya (*Green house* atau lapang), musim waktu mengambil, umur tanaman, kondisi tanamannya (sehat atau sakit).