

Penggunaan NAA (Naphthalene Acetic Acid) dan Kinetin (6-furfurylaminopurine) pada Induksi Tunas Kubis Bunga Putih (*Brassica oleraceae* L. var. *Botrytis*) secara *in-vitro*
(Use of NAA (Naphthalene acetic acid) and Kinetin (6-furfurylaminopurine) For In-Vitro Shoot Induction of White Cabbage (*Brassica oleraceae* L. var. *Botrytis*))

Desmin Tabuni^{1*)}, Jeany Sh. Polii-Mandang¹⁾, Wenny Tilaar¹⁾
¹⁾ Pascasarjana Program Studi Agronomi Unstrat Manado, 95115
*Email korespondensi: desmintabuni2394@gmail.com

Diterima 7 Agustus 2018, diterima untuk dipublikasikan 31 Agustus 2018

Abstrak

*Tujuan penelitian ini ialah untuk menentukan konsentrasi zat pengatur tumbuh (ZPT) NAA dan kinetin yang terbaik untuk induksi tunas kubis bunga putih (*Brassica oleraceae* L. var. *Botrytis*) secara in vitro. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Fakultas Pertanian Universitas Sam Ratulangi Manado, pada bulan Maret – Oktober 2018. Rancangan penelitian yaitu Percobaan Faktorial dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 16 kombinasi perlakuan dan diulang sebanyak 5 kali. Hasil analisis ragam memperlihatkan bahwa perlakuan kinetin 0 ppm menghasilkan tinggi tanaman terbesar, yaitu 5,31cm pada umur 4 minggu setelah kultur (MSK). Perlakuan NAA 0 ppm menghasilkan jumlah daun terbanyak pada umur 2 MSK (2,2) dan terbanyak pada umur 3 MSK (3,10). Perlakuan kinetin 0 ppm menghasilkan jumlah daun terbanyak pada umur 4 MSK (3,75). Perlakuan kinetin 3 ppm menghasilkan jumlah tunas terbanyak pada umur 4 MSK (4,95). Jumlah tunas terbanyak pada perlakuan kombinasi NAA 0,3 ppm dan kinetin 2 ppm adalah 1,8 pada umur 2 MSK.*

Kata Kunci : kubis, induksi tunas, NAA dan Kinetin, in vitro

Abstract

*The aim of this study was to determine the optimum concentration of NAA and kinetin for in vitro shoot induction of white cabbage (*Brassica oleraceae* L. var. *Botrytis*). This research was carried out in the Biotechnology Laboratory, Agricultural Faculty, Sam Ratulangi University, Manado in March - October 2018. Experimental design in this study was a Factorial Design in Completely Randomized Design that consisted of 16 treatment combinations with 5 replication. The results of ANOVA showed that 0 ppm kinetin resulted in the largest plant height, i.e 5.31cm at 4 weeks after culture. The highest leaf numbers were observed at 0 ppm NAA, i.e 2.2 at 2 weeks after culture and 3.10 at 3 weeks after culture. The highest leaf numbers was also observed at 0 ppm kinetin, i.e 3.75 at 4 weeks after culture. The treatment of 3 ppm kinetin resulted in the highest shoot number (4.95) at 4 weeks after culture. The highest shoot number at combination of 0.3 ppm NAA and 2 ppm kinetin was 1.8 at 2 4 weeks after culture.*

Keywords: Cabbage, Shoot Induction, NAA and Kinetin, in vitro

PENDAHULUAN

Upaya peningkatan produksi hortikultura di Indonesia semakin meningkat seiring dengan meningkatnya kebutuhan masyarakat terhadap kebutuhan akan gizi. Hal tersebut disebabkan oleh tingkat pengetahuan masyarakat yang tinggi dan tingkat pendapatan masyarakat yang semakin baik. Kebutuhan akan gizi ini salah satunya dapat dipenuhi dengan konsumsi sayuran (Eny *et al.* 2007). Sayuran jenis (*Brassica oleracea* L. *Var. Botrytis subvar. Cauliflora* DC.) kubis paling kaya zat antioksidan, baik dalam hal jumlah maupun jenisnya. Senyawa antioksidan yang paling penting tersimpan dalam kubis bunga adalah senyawa metabolit sekundernya, yang antara lain adalah sulfoksida S – metilsistein dan sulforafan. Sulfoksida S–metilsistein merupakan senyawa yang mampu menurunkan kolesterol darah, sedangkan sulforafan merupakan senyawa yang memiliki prospek sebagai obat kanker pada manusia (Rubatzky dan Yamaguchi 2001).

Metode perbanyakan bibit secara non-konvensional atau secara *in vitro* kultur jaringan merupakan teknik perbanyakan yang tepat untuk diterapkan karena mampu menumbuhkan sel-sel yang berasal dari tanaman induk pada suatu media buatan secara aseptik untuk mendapatkan tunas atau bakal tanaman baru. Keuntungan yang lain adalah metode ini tidak tergantung pada iklim, bebas hama dan penyakit, dan tidak membutuhkan.

Induksi dan perbanyakan tunas kubis bunga dengan menggunakan teknik kultur *in vitro* memerlukan formulasi media yang tepat dengan penambahan zat pengatur tumbuh (ZPT). Zat pengatur tumbuh yang sering digunakan untuk perbanyakan tunas adalah auksin dan sitokinin yang diberikan secara tunggal maupun

bersama-sama. Penelitian Wijayani *et al.* (2007), telah mengemukakan bahwa pemberian kinetin 5 mg + NAA 4 mg menghasilkan pertumbuhan tunas *G. scriptum* terbaik, yaitu jumlah tunas tertinggi, dan terjadi pembentukan akar. Konsentrasi kinetin 1 mg + NAA 0 mg mendorong diferensiasi PLB *G. scriptum* membentuk apeks batang dan primordia daun pada daun minggu ke-3. Adapun permasalahan dapat dirumuskan sebagai berikut: Berapa konsentrasi Kinetin dan NAA untuk meningkatkan induksi tunas pada kubis bunga putih secara *in vitro*. Penelitian ini bertujuan adalah untuk mengevaluasi konsentrasi yang terbaik dari kombinasi Kinetin dan NAA pada induksi tunas kubis bunga putih secara *in vitro*.

METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Fakultas Pertanian Universitas Sam Ratulangi Manado, Pada bulan Maret-Oktober 2018. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: Biji Kubis Bunga Putih, agar sebagai pematid, sukrosa, Kinetin, NAA, BAP, Air kelapa, Klorox, Alkohol 70 % dan 95 %, Betadine dan akuades steril, dan bahan lain yang mendukung penelitian ini. Media dasar yang digunakan adalah media MS (Murashige dan Skoog) ditambah dengan beberapa rasio konsentrasi ZPT. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah peralatan gelas (botol kultur, gelas ukur, beaker glass, erlenmeyer, dan petridish), timbangan analitik, pH meter, autoclave, *Laminar Air Flow* (LAF), peralatan diseksi (pinset, gunting dan skalpel), stirer, lampu spiritus, rak kultur dengan lampu 40 watt dan alat lain yang mendukung penelitian ini.

Penelitian ini merupakan percobaan faktorial dalam Rancangan Acak Lengkap yaitu

kombinasi antara NAA dan kinetin dalam 4 taraf NAA dan kinetin dalam 4 taraf, sehingga didapatkan 16 kombinasi perlakuan (Tabel 1) diulang sebanyak 5 kali.

Tabel 1. Perlakuan NAA dan kinetin

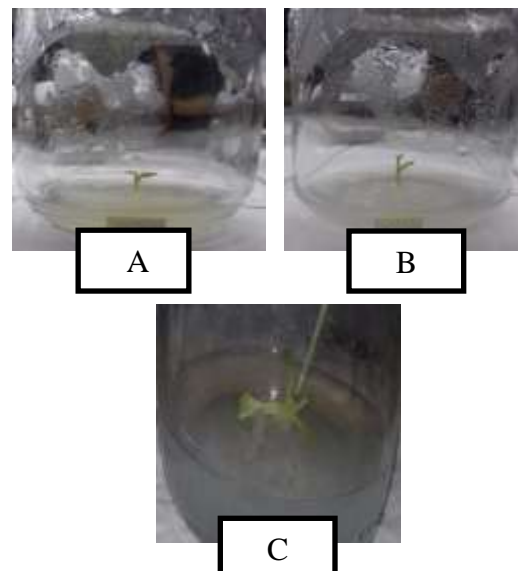
No	Kode	Perlakuan
1.	N0K0	NAA 0 ppm + Kinetin 0 ppm
2.	N0K1	NAA 0 ppm + Kinetin 1 ppm
3.	N0K2	NAA 0 ppm + Kinetin 2 ppm
4.	N0K3	NAA 0 ppm + Kinetin 3 ppm
5.	N1K0	NAA 0,1 ppm + Kinetin 0 ppm
6.	N1K1	NAA 0,1 ppm + Kinetin 1 ppm
7.	N1K2	NAA 0,1 ppm + Kinetin 2 ppm
8.	N1K3	NAA 0,1 ppm + Kinetin 3 ppm
9.	N2K0	NAA 0,2 ppm + Kinetin 0 ppm
10.	N2K1	NAA 0,2 ppm + Kinetin 1 ppm
11.	N2K2	NAA 0,2 ppm + Kinetin 2 ppm
12.	N2K3	NAA 0,2 ppm + Kinetin 3 ppm
13.	N3K0	NAA 0,3 ppm + Kinetin 0 ppm
14.	N3K1	NAA 0,3 ppm + Kinetin 1 ppm
15.	N3K2	NAA 0,3 ppm + Kinetin 2 ppm
16.	N3K3	NAA 0,3 ppm + Kinetin 3 ppm

Variabel yang akan diamati adalah tinggi tanaman diukur akhir pengamatan setelah kultur sampai 4 minggu, jumlah tunas yang diamati setiap minggu setelah kultur sampai 4 minggu dan jumlah daun di amati setiap minggu setelah kultur sampai 4 minggu. Data hasil pengamatan selanjutnya dianalisis dengan analisis ragam (ANOVA) dan apabila terdapat pengaruh nyata dilanjutkan dengan uji BNT 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Induksi Tunas

Proses terbentuknya tunas diawali dengan pemanjangan potongan tunas pucuk dan beberapa hari kemudian terjadi pembengkakan eksplan tanaman kemudian terakhir muncul tunas-tunas (Gambar 1).



Gambar 1. Proses terbentuknya tunas dari eksplan pucuk kubis bunga putih; (A dan B) Eksplan empat hari mulai memanjang dan membesar; (C) Eksplan enam hari mulai muncul tunas

Hal ini disebabkan terjadinya pembelahan, pembesaran, dan pemanjangan sel. Sel-sel ini mulai membentuk daun dan tunas dengan warna hijau. Interaksi dan perimbangan antara zat pengatur tumbuh yang diberikan dalam media dan yang diproduksi oleh sel endogen menentukan arah perkembangan suatu kultur. Penambahan auksin dan sitokinin eksogen, mengubah level zat pengatur tumbuh endogen kemudian morfogenesis (Gunawan 1992).

Tinggi Tanaman

Rata-rata tinggi tanaman umur 4 MSK disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Pengaruh Kinetin Terhadap Tinggi tanaman Umur 4 MSK

Perlakuan kinetin (ppm)	Rata-rata Tinggi Tunas (cm)
0 (K0)	5,31 ^c
1 (K1)	4,70 ^{bc}
2 (K2)	4,02 ^{ab}
3 (K3)	3,40 ^a
BNT 5%	1,17

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama, tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT 5%

Dari Tabel 2 menunjukkan bahwa tinggi tanaman yang tertinggi pada perlakuan 0 ppm kinetin tidak berbeda nyata dengan perlakuan K1 (1 ppm kinetin), dan berbeda nyata dengan K2 (2 ppm kinetin) dan K3 (3 ppm kinetin). Tanaman pada perlakuan 0 ppm kinetin menunjukkan pertumbuhan yang kurang vigor karena tanaman nampak etiolasi. Semakin tinggi konsentrasi kinetin semakin pendek tanaman. Hal ini diduga disebabkan karena kinetin merupakan golongan sitokinin yang lebih berpengaruh pada pertunasan. Karena energi yang dibutuhkan untuk pemanjangan tunas digunakan untuk pembentukan calon tunas lainnya, sehingga tinggi tunas dapat mengalami penghambatan. Seperti yang dikemukakan George dan Sherrington (1984) bahwa fungsi sitokinin seperti kinetin hanya untuk pembelahan sel saja, sehingga ini jelas bahwa kinetin menekan tinggi tunas. Menurut Lu (2005) sitokinin akan memacu pembelahan sel dan menghambat elongasi (perpanjangan), sehingga banyak terbentuk tunas, sedangkan elongasi tunasnya dihambat.

Jumlah Daun

Berdasarkan analisis ragam jumlah daun umur 1 MSK menunjukkan bahwa perlakuan NAA dan kinetin tidak memberikan pengaruhnya terhadap jumlah daun,

tetapi pada umur 2 dan 3 MSK menunjukkan pengaruh nyata (Tabel 3).

Tabel 3. Pengaruh Perlakuan NAA Terhadap Jumlah Daun Umur 2 dan 3 MSK

Perlakuan NAA (ppm)	Rata-rata Jumlah Daun Umur (MSK)	
	2	3
0 (N0)	2,20 ^c	3,10 ^b
0,1 (N1)	1,50 ^a	2,45 ^a
0,2 (N2)	2,00 ^{bc}	2,80 ^{ab}
0,3 (N3)	1,80 ^{ab}	2,45 ^a
BNT 5%	0,35	0,44

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama, tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT 5%

Berdasarkan Tabel 3, menunjukkan perlakuan tanpa 0 ppm NAA memiliki rerata tertinggi yaitu 2,20 helai, ini menunjukkan tanpa NAA dapat memberikan pengaruh pada jumlah daun meski perlakuan 0 ppm tidak berbeda dengan perlakuan N2 (2 ppm NAA), N3 (3 ppm NAA) namun berbeda dengan perlakuan 1 ppm NAA yaitu 1.50 helai, pada umur 2 MSK. Pada umur 3 MSK perlakuan tanpa 0 ppm NAA memberikan pengaruh nyata dengan perlakuan N1 (1 ppm NAA), N2 (2 ppm NAA) dan N3 (3 ppm NAA). Hal ini diduga bahwa NAA sebagai auksin mendorong pertumbuhan tanaman. Sesuai penelitian Maryani (2003) apabila kondisi auksin eksogen berada pada kondisi sub optimal, maka diperlukan penambahan auksin secara endogen, sehingga diperoleh perimbangan auksin yang optimal. Ekawati (2006) menyatakan bahwa jika konsentrasi NAA ditambahkan ke media, akan meningkatkan auksin eksogen sehingga terjadi akumulasi auksin. Menurut Damissie (2013), jumlah helai daun dipengaruhi oleh jumlah tunas yang muncul, sehingga semakin sedikit

tunas yang muncul, maka jumlah daun yang terbentuk semakin banyak dan sebaliknya.

Tabel 4. Pengaruh Perlakuan Kinetin Terhadap Jumlah Daun pada Umur 4 MSK

Perlakuan kinetin (ppm)	Rata-rata jumlah daun
0 (K0)	3,75 ^b
1 (K1)	3,00 ^a
2 (K2)	3,20 ^{ab}
3 (K3)	3,10 ^a
BNT 5%	0,55

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama, tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT 5%.

Berdasarkan Tabel 4, menunjukkan perlakuan tanpa 0 ppm kinetin memberikan rerata tertinggi yaitu 3,75 helai, berbeda nyata dengan K 3 3 ppm kinetin, K2 2 ppm kinetin dan K1 1 ppm kinetin. Hal ini disebabkan kinetin adalah sitokinin lebih mendorong pada jumlah tunas. Di duga perlakuan kinetin mampu memacu pembentukan daun lebih tinggi dimana, beberapa kultur tidak memerlukan ZPT, karena sitokinin endogen diduga sudah cukup memenuhi kebutuhan kultur bersangkutan (Sriyanti dan Wijayani 1994). Selain faktor eksplan yang digunakan adalah jaringan meristem yang aktif membela diri kaya akan ZPT endogen sehingga mampu memacu pertumbuhan kearah pembentukan daun. Penelitian Mahadi (2010), menggunakan zat pengatur tumbuh sitokinin seperti kinetin yang berperan untuk proses pembelahan sel dan pembentukan organ tanaman.

Jumlah Tunas

Perlakuan NAA dan kinetin terjadi interaksi terhadap jumlah tunas umur 2 MSK (Tabel 5). Perlakuan N3 0,3 ppm NAA + K2 2

ppm kinetin berbeda nyata memiliki rerata yaitu 1,8 tunas, berbeda dengan N2 0,2 ppm NAA+ K3 3 ppm kinetin, N3 0,3 ppm NAA + K3 3 ppm kinetin dan N2 0,2 ppm NAA + K2 2 ppm kinetin yaitu 0,4 tunas. Hal ini sesuai hasil penelitian Royani dan Any (2016) induksi tunas tercepat terdapat pada konsentrasi 0 mg kinetin + 5 mg NAA, dengan jumlah tunas terbanyak terdapat pada konsentrasi 3 mg kinetin + 2 mg NAA pada tanaman krisan. Penelitian Sulichantini (2016) mendapatkan pada medium MS diperkaya ZPT golongan sitokinin dan auksin dengan konsentrasi NAA 1 mg + kinetin 3 mg mampu meningkatkan eksplan morfogenesis dalam pembentukan planlet seperti, daun, tunas, akar serta kalus pada tanaman bawang putih (*Allium sativum* L.) secara *in vitro*. Pada penelitian Setyo dan Ni Made (2015), mendapatkan hasil proliferasi tunas terbaik pada medium MS yang di perkaya zat pengatur tumbuh NAA 1 mg/L sebanyak 5,2 tunas dalam 10 minggu pada tanaman kantong semar (*Nepenthes mirabilis*). Hal ini membuktikan bahwa tunas sangat dipengaruhi oleh peran jenis zat pengatur tumbuh.

Tabel 5. Pengaruh interaksi NAA dan Kinetin Terhadap Jumlah Tunas Umur 2 MSK

Perlakuan NAA (ppm)	Perlakuan Kinetin (ppm)			
	0	1	2	3
0 (N0)	0,0 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a
0,1 (N1)	0,0 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a
0,2 (N2)	0,0 ^a	0,0 ^a	0,4 ^a	1,0 ^{ab}
0.3 (N3)	0,0 ^a	0,0 ^a	1,8 ^b	0,8 ^a
BNT 5%	0,85			

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama, tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT 5%

Perlakuan kinetin 3 ppm menghasilkan jumlah tunas terbanyak baik pada pengamatan 3 dan 4 MSK (Tabel 6). Hal ini di duga media MS yang diperkaya dengan ZPT golongan sitokinin dapat mendorong pembelahan sel dan morfogenesis. Hasil penelitian Rizal *et al.* (2017), berbagai macam konsentrasi kinetin terhadap induksi tunas aksilar tanaman kakao, menghasilkan tunas terbanyak pada perlakuan kinetin 2 ppm rata-rata 0,833. Pada penelitian ini sebagian eksplan menghasilkan kalus. secara visual, karakter kalus, warna dan tekstur kalus pada setiap eksplan tidak terdapat perbedaan.

Tabel 6. Pengaruh Kinetin terhadap Jumlah Tunas Umur 3 dan 4 MSK

Perlakuan kinetin (ppm)	Rata-rata Jumlah Tunas Umur (MSK)	
	4	3
0 (K0)	0,00 ^a	0,20 ^a
1 (K1)	0,25 ^{ab}	1,10 ^a
2 (K2)	0,75 ^{bc}	1,45 ^a
3 (K3)	0,85 ^c	4,95 ^b
BNT 5%	0,56	2,69

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama, tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT 5%

Menurut Zulkarnain (2011), pertumbuhan tunas dipengaruhi oleh tiga faktor yaitu eksplan, media, dan lingkungan. Dalam kultur jaringan kebanyakan membutuhkan sitokinin untuk induksi tunas. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Avivi dan Ikrarwati (2004), mendapatkan induksi tunas dengan konsentrasi kinetin 7 ppm meningkatkan jumlah tunas terbaik dengan nilai rata-rata 8,4 tunas per eksplan pada tanaman pisang abaca. Pada pengamatan ini muncul kalus pada eksplan karena adanya rangsangan ZPT golongan auksin dan sitokinin yang seimbang. Sesuai dengan pendapat George dan Sherrington (1984) menyatakan

bahwa perbandingan auksin terhadap sitokinin, bila konsentrasi auksin yang seimbang dengan sitokinin maka akan merangsang pembantukan kalus.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa induksi tunas kubis bunga putih (*Brassica oleraceae* Var. *Botrytis*) *in vitro* yang terbaik adalah pada perlakuan kinetin 3 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

Agus SY dan Ni MAW (2015) Pengaruh pemberian auksin (NAA dengan sitokinin (kinetin dan BAP) terhadap daya proliferasi tanaman kantong semar (*Nepenthes mirabilis*) secara *in vitro*.

Anwar N (2007) Pengaruh media multifikasi terhadap pembentukan akar pada tunas *in vitro* nenas (ananas comosus (L.) Merr.) cv. Smooth Ceyenne di media pengakaran. Skripsi, Fakultas Pertanian, Institute Pertanian Bogor.

Dwi E, Sulichantini (2016) Pengaruh Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh Terhadap Regenerasi Bawang Putih (*Allium sativum* L) Secara Kultur Jaringan. Laboratorium Kultur Jaringan, Fakultas Pertanian Universitas Mulawarman. Jurnal AGRIFOR Volume 15(1).

Demissie AG (2013) Effect of different combinations of BAP (6-benzyl amino purine) and NAA (*Napthalene acetic acid*) on multiple shoot proliferation of plantain (*Musa spp.*) cv. Matoke from meristem derived explant. *Academia J. Biotech.* 1(5): 2315-7747.

Ekawati M (2006) Pengaruh Media Multifikasi Terhadap

- Pembentuk Akar Dari Tunas In Vitro Nenas (Ananas comonus (L.) Merr) cv. Smooth Cayenne Pada Media Pengakaran. (Skripsi). Bogor. Fakultas Pertanian Institute Pertanian Bogor.
- Gunawan LW (1992) Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB, Bogor.
- George EF and Sherrington PD (1984) Plant Propagation by Tissue Culture. Hendbook and Directory of Comercial Laboratories. Exegetics Limited., Eglan p. 184-244.
- Royani IA, Fatmawati (2016) Pengaruh Konsentrasi NAA dan Kinetin Terhadap Pertumbuhan Tanaman Krisan Secara *In Vitro*. Program Studi Pendidikan Biologi, FPMIPA IKIP Mataram. Jurnal Ilmiah Biologi 4(2), ISSN 2338-5006.
- Rizal SWEM dan Nihatati E (2017) Pengaruh Pemberian Beberapa Konsentrasi Kinetin Terhadap Induksi Tunas Aksilar Tanaman Kakao (*Theobroma cacao* L.) Secara *In vitro*. Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya. Jurnal 5(9), ISSN: 2527-8452.
- Sriyanti DP dan Wijayani A (1994) Teknik Kultur Jaringan, Pengenalan dan Petunjuk Perbanyakan Tanaman Secara Vegetatif Modern. Kanisius. Yogyakarta.