

## Konservasi *In Vitro* Tanaman Hias Akuatik *Bacopa australis* dan *Alternanthera reineckii* Menggunakan Paklobutrazol dan Benzil Adenin

### (*In Vitro* Conservation of Ornamental Aquatic Plants *Bacopa australis* and *Alternanthera reineckii* Using Paclobutrazol and Benzyl Adenine)

Endang Gati Lestari<sup>1\*</sup>, Media Fitri Isma Nugraha<sup>2</sup>, Rossa Yunita<sup>1</sup>, dan Alfia Annur Aini Azizi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian, Jl. Tentara Pelajar No. 3A, Bogor 16111, Jawa Barat, Indonesia

Telp. (0251) 8337975, 8354985; Faks. (0251) 8338820

<sup>2</sup>Balai Riset Budidaya Ikan Hias, Jl. Perikanan Raya No. 13, Pancoran MAS, Depok 16436, Jawa Barat, Indonesia

\*E-mail: endanggatilestari@gmail.com

Diajukan: 18 November 2020; Direvisi: 8 Februari 2021; Diterima: 23 Maret 2021

#### ABSTRACT

*Bacopa australis* and *Alternanthera reineckii* which have high economic value as ornamental aquatic plants are intended to be developed. Minimal growth is widely used as *in vitro* conservation storage technique by using growth-inhibiting compounds such as paclobutrazol (PBZ), cicocel, ancimidol, and osmotic components, such as sorbitol and mannitol. These culture techniques play an important role in culture storage because cultures can be stored for up to several months without having to be sub-cultured. The research aimed to investigate the effect of paclobutrazol as growth inhibitor and its interaction with benzyl adenine (BA) as growth regulator, to inhibit the culture growth and the culture visual during storage. The materials used were *in vitro* shoots of *B. australis* and *A. reineckii* aged 4 months, the media tested were basic media Murashige dan Skoog (MS) + PBZ (0.1, 0.3, 0.5, and 0.7 mg/l) + BA (0 and 0.1 mg/l). The experiment was carried out in the ICABIOGRAD Tissue Culture Laboratory, from January to July 2019. The results showed that PBZ 0.1 to 0.7 mg/l can inhibit shoot growth, number of shoots, number of roots, length of roots, and number of leaves from *B. australis* and *A. reineckii* *in vitro*. The interactions of these PBZ concentrations with cytokinin BA 0.1 mg/l, also made the culture visual remains strong, up to 6 months after planting. This formula medium may be applied for storage of other same kind aquatic plant germplasm.

**Keywords:** *In vitro*, storage, paclobutrazol, *Bacopa australis*, *Alternanthera reineckii*.

#### ABSTRAK

Tanaman *Bacopa australis* dan *Alternanthera reineckii* mempunyai nilai ekonomi cukup tinggi sebagai tanaman hias akuatik, sehingga berpotensi untuk dikembangkan. Pertumbuhan minimal merupakan teknik penyimpanan *in vitro* yang banyak digunakan dengan menggunakan senyawa penghambat tumbuh seperti paklobutrazol (PBZ), sisosel (CCC), ansimidol, serta komponen osmotik seperti sorbitol dan manitol. Teknik kultur *in vitro* mempunyai peran penting untuk penyimpanan biakan, karena biakan dapat disimpan sampai beberapa bulan tanpa harus dilakukan subkultur. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh zat penghambat paklobutrazol dan interaksinya dengan zat pengatur tumbuh benzil adenin (BA) untuk menghambat pertumbuhan biakan serta visual biakan selama penyimpanan. Bahan yang digunakan adalah tunas *in vitro* *B. australis* dan *A. reineckii* umur 4 bulan, media yang diuji adalah media dasar Murashige dan Skoog (MS) + PBZ (0,1, 0,3, 0,5, dan 0,7 mg/l) + BA (0 dan 0,1 mg/l). Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan BB Biogen pada bulan Januari sampai Juli 2019. Hasil penelitian menunjukkan bahwa PBZ 0,1–0,7 mg/l dapat menghambat pertumbuhan tinggi tunas, jumlah tunas, jumlah akar, panjang akar, dan jumlah daun dari biakan *in vitro* *B. australis* dan *A. reineckii* demikian pula interaksinya dengan sitokinin BA 0,1 mg/l, yang membuat visual biakan tetap tegar sampai 6 bulan setelah tanam. Formula media yang diperoleh diharapkan dapat diaplikasikan untuk penyimpanan plasma nutfah tanaman akuatik yang sejenis.

**Kata kunci:** *In vitro*, penyimpanan, paklobutrazol, *Bacopa australis*, *Alternanthera reineckii*.

## PENDAHULUAN

*Bacopa australis* adalah jenis tanaman akuatik yang mempunyai potensi untuk dikembangkan sebagai tanaman hias karena dapat tumbuh merambat di dasar akuarium dan membentuk bantalan yang eksotis. Tanaman hias akuatik *B. australis* banyak diminati oleh pecinta atau pebisnis *aquascape*, baik di dalam negeri maupun di luar negeri (Yunita et al. 2018). Selain *B. australis* dikenal pula *Alternanthera reineckii*, di mana tanaman ini dikenal dengan istilah *aquatic plant* atau flora akuatik yang hidup di dalam lumpur dan mengambang di atas permukaan air. Tanaman *B. australis* dapat diperbanyak secara *in vitro* menggunakan media Murashige dan Skoog (MS) + benzil adenin (BA) 0,5 mg/l + kinetin 0,5 mg/l untuk mendapatkan tanaman induk sebagai materi perbanyakan *in vitro* maupun konservasi sehingga biakan selalu tersedia (Nugraha et al. 2017).

Pertumbuhan biakan *B. australis* dan *A. reineckii* di dalam kultur *in vitro* umumnya sangat cepat dan faktor multiplikasi tunasnya sangat tinggi, sehingga dalam waktu dua bulan biakan di dalam botol kultur sudah penuh. Untuk mengatasi masalah tersebut perlu formula media untuk menghambat pertumbuhan biakan dan meminimalisir waktu untuk subkultur. Formula media untuk penyimpanan yang diperoleh diharapkan dapat menghambat pertumbuhan agar tidak tumbuh cepat dan dapat disimpan dalam jangka waktu lama. Tujuan dari penyimpanan biakan di dalam kultur *in vitro* adalah menjaga agar pertumbuhan jaringan tetap terjadi namun sangat lambat sehingga secara morfologi maupun fisiologi tidak mengalami perubahan (Indrayanti et al. 2018).

Teknik kultur *in vitro* mempunyai peran penting untuk penyimpanan biakan, karena biakan dapat disimpan sampai beberapa bulan tanpa harus dilakukan subkultur. Lamanya penghambatan pertumbuhan biakan tergantung kemampuan regenerasi serta formula media yang digunakan untuk penyimpanan (Gonzalez-Arno et al. 2008; Cruz-Cruz et al. 2013). Pertumbuhan minimal merupakan teknik penyimpanan *in vitro* yang banyak digunakan. Senyawa penghambat pertumbuhan yang umum digunakan antara lain paklobutrazol (PBZ),

sisosol (CCC), ansimidol, serta komponen osmotik seperti sorbitol dan manitol (Engelmann 2011; Huang et al. 2014; Silva et al. 2019). Penyimpanan dengan teknik pertumbuhan lambat adalah untuk memperlambat atau menghentikan metabolisme tanaman sehingga meminimalisir perkembangan biakan tanpa merubah sifat genetik tanaman. Penyimpanan menggunakan pertumbuhan lambat dapat dilakukan dengan memodifikasi lingkungan dan media tumbuh (Kamińska et al. 2016).

Konservasi aksesi plasma nutfah sangat penting, mengingat pertumbuhan tanaman di habitat aslinya dapat menghadapi risiko kerusakan atau hilangnya aksesi akibat kerusakan lingkungan seperti kekeringan, banjir, atau gempa bumi (Lestari 2018). Dengan teknik kultur *in vitro* maka biakan dapat disimpan dalam jangka waktu lama, sehingga plasma nutfah tanaman yang mempunyai nilai ekonomi serta tanaman yang hampir punah dapat dijaga agar tidak punah (Roostika et al. 2009; Cruz-Cruz et al. 2013). Keuntungan penyimpanan menggunakan kultur *in vitro* adalah selain mampu menyimpan aksesi plasma nutfah dalam jumlah banyak dalam ruang yang kecil, sewaktu-waktu biakan tersebut dapat diregenerasikan untuk diperbanyak kembali sehingga efisien untuk tujuan konservasi plasma nutfah (Te-chato et al. 2009; Verma et al. 2012). PBZ merupakan senyawa penghambat tumbuh untuk menghambat pemanjangan tunas (Te-chato et al. 2009). Respons terhadap perlakuan PBZ yang diberikan tergantung pada jenis tanaman yang digunakan hal ini terkait dengan kemampuan regenerasi dan multiplikasi jaringan tanaman. Pada penyimpanan biakan daun dawa (*Pelargonium tomentosum*), perlakuan media MS $\frac{1}{2}$  yaitu media dengan kandungan makro diencerkan menjadi setengahnya + PBZ 4 mg/l tidak dapat menghambat pertumbuhan tinggi tunas, namun dapat menekan pembentukan tunas baru (Lestari dan Purnamaningsih 2016). Pada penelitian tersebut perlakuan yang dapat menghambat pertumbuhan tinggi dan jumlah tunas adalah asam absisat 5 mg/l. PBZ konsentrasi 5 mg/l untuk penyimpanan umbi akar tikus (*Typhonium flagelliforme* [G.Lodd.] Blume) mampu menekan pemanjangan tunas dan pembentukan plantlet serta pembentukan daun dan pemanjangan akar

(Sianipar 2019). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh perlakuan PBZ dan BA pada penghambatan biakan *B. australis* dan *A. reineckii* untuk tujuan konservasi secara *in vitro*.

## BAHAN DAN METODE

### Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biologi Sel dan Jaringan, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian (BB Biogen), dari bulan Januari hingga Juli 2019.

### Bahan Tanaman

Bahan yang digunakan untuk penelitian adalah biakan *in vitro* *B. australis* dan *A. reineckii* umur 3 bulan yang merupakan koleksi Laboratorium Kultur Jaringan Biologi Sel dan Jaringan, BB Biogen.

### Metode

Media yang digunakan adalah media dasar MS. Sebagai sumber energi digunakan sukrosa 30 g/l. Nilai pH media dibuat 5,8 dengan menambahkan 1N NaOH atau 1N HCl. Media dipadatkan menggunakan agar-agar berwarna putih sebanyak 7,5 g/l. Sterilisasi media menggunakan autoklaf pada tekanan 121 psi selama 15 menit.

Penelitian dilakukan menggunakan rancangan acak lengkap dua faktor, faktor pertama adalah pengaruh PBZ, terdiri atas 4 taraf konsentrasi yaitu 0,1, 0,3, 0,5, dan 0,7 mg/l. Faktor kedua adalah pengaruh sitokinin BA yang terdiri atas 2 taraf yaitu 0,0 dan 0,1 mg/l. Jumlah perlakuan adalah  $4 \times 2 = 8$ . Mata tunas biakan *in vitro* berukuran 0,5 cm ditanam pada media perlakuan penyimpanan, masing-masing botol terdiri atas dua eksplan. Botol

yang telah ditanami eksplan selanjutnya diletakkan di dalam rak kultur dengan peninaran menggunakan lampu TL 1500 lux. Peninaran selama 16 jam sehari, temperatur ruangan sekitar 23°C.

### Pengamatan dan Analisis Data

Pengamatan dilakukan pada bulan ke 6 setelah tanam. Peubah yang diamati adalah tinggi tunas (cm) diukur dari pangkal media tanam sampai titik tumbuh, jumlah tunas (buah), jumlah daun (buah), jumlah akar (buah), dan panjang akar (cm) diukur dari pangkal akar sampai ujung akar. Banyaknya biakan yang diamati sebanyak 10 buah dari masing-masing perlakuan. Data dianalisis secara statistik menggunakan program Star, apabila berbeda nyata dilakukan uji lanjut menggunakan LSD pada taraf 5%.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### *Bacopa australis*

Analisis ragam aplikasi PBZ dan BA dapat dilihat pada Tabel 1. Perlakuan PBZ berpengaruh nyata pada tinggi tunas, jumlah tunas, jumlah akar, dan jumlah daun. Perlakuan BA memberikan pengaruh yang nyata pada pertumbuhan tinggi tunas, jumlah tunas, panjang akar, dan jumlah daun. Interaksi antara PBZ dan BA berpengaruh pada pertumbuhan tinggi tunas, jumlah akar, panjang akar, dan jumlah daun.

Pada Tabel 2 menunjukkan bahwa perlakuan PBZ 0,3 mg/l dan 0,5 mg/l yang dikombinasikan dengan BA 0,1 mg/l memberikan respons terbaik menghambat tinggi tunas *B. australis* secara *in vitro*. Pada media tersebut tinggi tunas yang dihasilkan hanya 0,3 cm. Faktor tunggal PBZ dan BA berpengaruh nyata terhadap peubah jumlah tunas *B. australis in vitro* (Tabel 3). Dari hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa zat penghambat

**Tabel 1.** Rekapitulasi analisis ragam aplikasi PBZ dan BA untuk konservasi *in vitro* *B. australis*.

Sumber keragaman	Tinggi tunas	Jumlah tunas	Jumlah akar	Panjang akar	Jumlah daun
PBZ	**	**	**	tn	**
BA	**	*	tn	**	**
PBZ × BA	**	tn	**	**	**

tn = tidak berbeda nyata, \* = berbeda nyata pada taraf 5%, \*\* = berbeda nyata pada taraf 1%.

tumbuh yang diberikan memberikan respons yang berbeda tergantung jenis tanaman. Indrayanti et al. (2018) menyatakan bahwa respons tanaman terhadap zat penghambat tumbuh tergantung pada jenis tanaman hal ini ada kaitannya dengan kandungan senyawa sitokinin endogen di dalam jaringan tanaman.

Perlakuan PBZ, BA, dan interaksi keduanya memberikan pengaruh sangat nyata terhadap jumlah daun *B. australis in vitro* (Tabel 4). Perlakuan PBZ 0,1, 0,3, dan 0,5 mg/l yang dikombinasikan dengan BA 0,1 mg/l, menghasilkan jumlah daun lebih sedikit dibanding dengan apabila dikombinasikan dengan perlakuan BA 0,0 mg/l.

Perlakuan PBZ dan interaksi PBZ dengan BA memberikan pengaruh sangat nyata terhadap

pembentukan akar (Tabel 5). Jumlah akar *B. australis* pada media PBZ 0,5 mg/l tanpa BA terkecil dibanding dengan ketiga perlakuan PBZ lainnya. Namun, jumlah akar *B. australis* yang ditanam pada media dengan BA 0,1 mg/l dengan kombinasi keempat taraf PBZ menunjukkan jumlah akar yang tidak berbeda nyata (Tabel 5). Hasil yang sama dihasilkan pada peubah panjang akar (Tabel 6).

Pada Gambar 1 dapat dilihat adanya penghambatan yang nyata pada biakan yang ditanam pada media dasar MS + PBZ. Bulan ke-6 menunjukkan tinggi biakan hanya 1,3 cm (Tabel 2), dibanding dengan biakan yang ditanam pada media tanpa zat pengatur tumbuh, tinggi tunas yang dihasilkan mencapai 5 cm pada bulan ke-3 (Gambar 1i).

**Tabel 2.** Pengaruh interaksi PBZ dan BA terhadap tinggi tunas *B. australis in vitro* pada bulan ke-6.

BA (mg/l)	PBZ (mg/l)			
	0,1	0,3	0,5	0,7
	----- cm -----			
0,0	2,6 a; $\alpha$	2,7 a; $\alpha$	1,3 a; $\beta$	1,2 a; $\beta$
0,1	1,5 b; $\alpha$	0,5 b; $\beta$	0,3 b; $\beta$	1,3 a; $\alpha$

Angka yang diikuti oleh huruf abc dalam kolom yang sama atau  $\alpha\beta\gamma$  dalam baris yang sama tidak berbeda nyata pada uji lanjut LSD 5%.

**Tabel 3.** Pengaruh faktor tunggal PBZ dan BA terhadap jumlah tunas *B. australis in vitro* pada bulan ke-6.

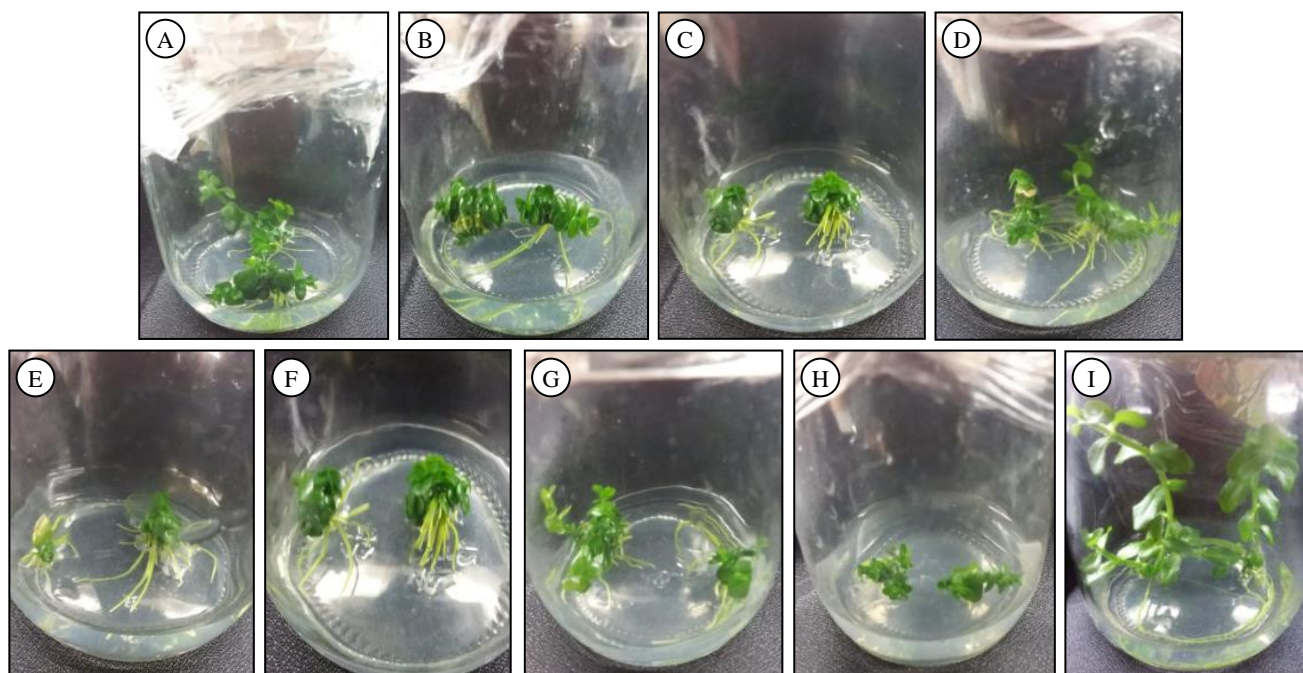
Perlakuan	(mg/l)	Jumlah tunas
PBZ	0,1	4,25 a
	0,3	4,31 a
	0,5	3,19 b
	0,7	3,61 ab
BA	0,0	4,50 a
	0,1	3,18 b

Angka dalam perlakuan dan kolom yang sama diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji lanjut LSD 5%.

**Tabel 4.** Pengaruh interaksi PBZ dan BA terhadap jumlah daun *B. australis in vitro* pada bulan ke-6.

BA (mg/l)	PBZ (mg/l)			
	0,1	0,3	0,5	0,7
	----- cm -----			
0,0	37,0 a; $\alpha$	31,0 a; $\alpha\beta$	25,8 a; $\beta\gamma$	20,4 b; $\gamma$
0,1	21,9 b; $\alpha$	13,7 b; $\beta$	9,1 b; $\beta$	28,4 a; $\alpha$

Angka yang diikuti oleh huruf abc dalam kolom yang sama atau  $\alpha\beta\gamma$  dalam baris yang sama tidak berbeda nyata pada uji lanjut LSD 5%.



**Gambar 1.** Biakan *B. australis* pada media penyimpanan bulan ke-6. A = PBZ 0,1 mg/l + BA 0,0 mg/l, B = PBZ 0,3 mg/l + BA 0,0 mg/l, C = PBZ 0,5 mg/l + BA 0,0 mg/l, D = PBZ 0,7 mg/l + BA 0,0 mg/l, E = PBZ 0,1 mg/l + BA 0,1 mg/l, F = PBZ 0,3 mg/l + BA 0,1 mg/l, G = PBZ 0,5 mg/l + BA 0,1 mg/l, H = PBZ 0,7 mg/l + BA 0,1 mg/l, I = MS 0 (tanpa zat pengatur tumbuh) pada bulan ke-3 setelah tanam.

**Tabel 5.** Pengaruh interaksi PBZ dan BA terhadap jumlah akar *B. australis in vitro* pada bulan ke-6.

BA (mg/l)	PBZ (mg/l)			
	0,1	0,3	0,5	0,7
0,0	16,5 a; $\beta$	22,1 a; $\alpha$	11,7 a; $\gamma$	12,8 a; $\beta\gamma$
0,1	14,5 a; $\alpha$	13,8 b; $\alpha$	13,3 a; $\alpha$	16,2 a; $\alpha$

Angka yang diikuti oleh huruf abc dalam kolom yang sama atau  $\alpha\beta\gamma$  dalam baris yang sama tidak berbeda nyata pada uji lanjut LSD 5%.

**Tabel 6.** Pengaruh interaksi PBZ dan BA terhadap panjang akar *B. australis in vitro* pada bulan ke-6.

BA (mg/l)	PBZ (mg/l)			
	0,1	0,3	0,5	0,7
0,0	3,0 a; $\alpha$	3,2 a; $\alpha$	1,7 a; $\beta$	1,3 a; $\beta$
0,1	2,9 a; $\alpha$	1,5 b; $\beta$	1,8 a; $\beta$	1,7 a; $\beta$

Angka yang diikuti oleh huruf abc dalam kolom yang sama atau  $\alpha\beta\gamma$  dalam baris yang sama tidak berbeda nyata pada uji lanjut LSD 5%.

### *Alternanthera reineckii*

Analisis ragam aplikasi PBZ dan BA serta interaksinya pada biakan *A. reineckii* dapat dilihat pada Tabel 7. Perlakuan PBZ secara tunggal memberikan pengaruh nyata pada peubah tinggi

tunas, jumlah tunas, jumlah akar, panjang akar, dan jumlah daun. Perlakuan tunggal BA memberikan pengaruh nyata pada pertumbuhan jumlah tunas, jumlah akar, dan panjang akar. Perlakuan kombinasi antara PBZ dan BA memberikan pengaruh

yang nyata pada perubah tinggi tunas, jumlah tunas, jumlah akar, dan panjang akar.

Interaksi antara PBZ dan BA pada pertumbuhan tinggi tunas dapat dilihat pada Tabel 8. Berdasarkan data tinggi tunas, semakin tinggi konsentrasi PBZ pada media, tinggi tunas *A. reineckii* semakin rendah (Tabel 8). Pada perlakuan BA 0,1 mg/l + PBZ 0,5 dan 0,7 mg/l tinggi tunas yang dihasilkan lebih rendah dari perlakuan BA 0,0 mg/l. Ini menunjukkan bahwa BA 0,1 mg/l dengan kombinasi PBZ 0,3–0,7 mg/l mampu menghambat pertumbuhan tinggi tunas *A. reineckii*.

Gambar 2 menunjukkan adanya BA di dalam media menghasilkan tunas lebih kokoh dan warna daun menjadi lebih merah, sementara PBZ menghambat pertumbuhan tunas. PBZ merupakan zat penghambat tumbuh yang dapat menghambat pertumbuhan ke arah tinggi pada plantlet dan menghambat pemanjangan buku antar-ruas batang karena adanya penghambatan biosintesis giberelin (Indrayanti et al. 2018). PBZ 2 dan 3 mg/l untuk penyimpanan biakan bangle (*Zingiber purpureum* Roxb) dapat menghambat pertumbuhan jumlah tunas, tinggi tunas, jumlah daun, dan jumlah akar, serta mampu memperpanjang masa simpan sampai 9 bulan (Ibrahim 2015).

Pada penelitian ini PBZ 0,7 mg/l yang dikombinasikan baik dengan BA 0,0 dan 0,1 mg/l menghasilkan tunas paling sedikit dibanding

dengan perlakuan ketiga taraf PBZ lainnya (Tabel 9). Hal ini mengindikasikan semakin tinggi konsentrasi PBZ yang digunakan, semakin sedikit jumlah tunas *A. reineckii*. Namun demikian, visual biakan tetap segar (Gambar 2). Prinsip penyimpanan materi genetik melalui kultur *in vitro* adalah untuk memperlambat laju pertumbuhan plantlet, namun tidak merubah fisiologi jaringan demikian pula morfologi tanaman (Indrayanti et al. 2018).

Tabel 10 dan 11 menunjukkan bahwa PBZ berpengaruh menghambat jumlah dan panjang akar *A. reineckii in vitro*. Penambahan BA 0,1 mg/l pada PBZ 0,5 dan 0,7 mg/l justru semakin menambah kekuatan menghambat pertumbuhan karena tidak adanya *A. reinecki* yang menghasilkan akar.

Peran PBZ adalah menghambat pertumbuhan tanaman, karena adanya hambatan urutan reaksi oksidasi dari *ent-kaurene* menjadi asam *ent-kaurene* dalam pembentukan asam giberelin (GA), sehingga menyebabkan batang tanaman menjadi pendek (Dewi et al. 2013; Indrayanti et al. 2018). Adanya penghambatan pada pertumbuhan tunas serta pemendekan tunas menyebabkan biakan dapat disimpan dalam waktu lama tanpa harus dilakukan subkultur (Gambar 2).

Perlakuan PBZ, BA, dan interaksi keduanya berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan panjang akar (Tabel 11). Perlakuan BA yang dikombinasikan dengan PBZ 0,3, 0,5, dan 0,7 mg/l tidak menghasilkan akar.

**Tabel 7.** Rekapitulasi analisis ragam aplikasi PBZ dan BA untuk konservasi *in vitro* *A. reineckii*.

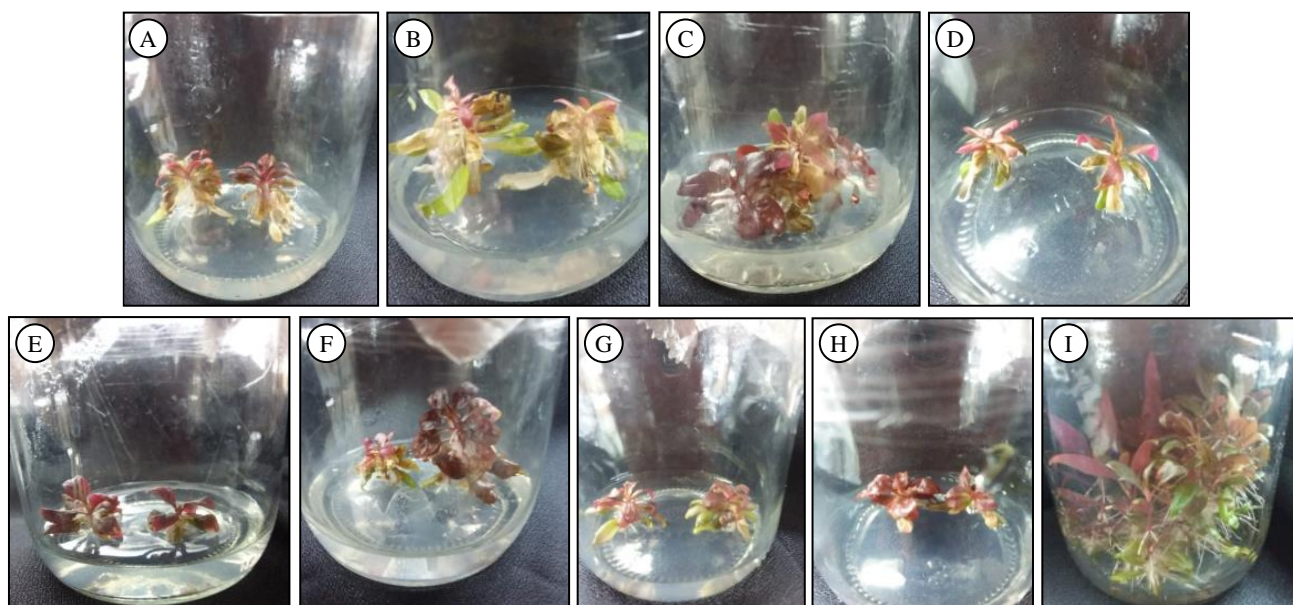
Sumber keragaman	Tinggi tunas	Jumlah tunas	Jumlah akar	Panjang akar	Jumlah daun
PBZ	**	**	**	tn	**
BA	**	*	tn	**	**
PBZ × BA	**	tn	**	**	**

tn = tidak berbeda nyata, \* = berbeda nyata pada taraf 5%, \*\* = berbeda nyata pada taraf 1%.

**Tabel 8.** Pengaruh interaksi PBZ dan BA terhadap tinggi tunas *A. reineckii in vitro* pada bulan ke-6.

BA (mg/l)	PBZ (mg/l)			
	0,1	0,3	0,5	0,7
0,0	1,41 b; α	1,56 a; α	1,50 a; α	1,16 a; α
0,1	3,43 a; α	1,24 a; β	0,78 b; β	0,21 b; γ

Angka yang diikuti oleh huruf abc dalam kolom yang sama atau αβγ dalam baris yang sama tidak berbeda nyata pada uji lanjut LSD 5%.



**Gambar 2.** Biakan *A. reineckii* pada media penyimpanan bulan ke 6 setelah tanam A = PBZ 0,1 mg/l + BA 0,0 mg/l, B = PBZ 0,3 mg/l + BA 0,0 mg/l, C = PBZ 0,5 mg/l + BA 0,0 mg/l, D = PBZ 0,7 mg/l + BA 0,0 mg/l, E = PBZ 0,1 mg/l + BA 0,1 mg/l, F = PBZ 0,3 mg/l + BA 0,1 mg/l, G = PBZ 0,5 mg/l + BA 0,1 mg/l, H = PBZ 0,7 mg/l + BA 0,1 mg/l, I = MS 0 (tanpa zat pengatur tumbuh) bulan ketiga setelah tanam.

**Tabel 9.** Pengaruh interaksi PBZ dan BA terhadap jumlah tunas *A. reineckii in vitro* pada bulan ke-6.

BA (mg/l)	PBZ (mg/l)			
	0,1	0,3	0,5	0,7
0,0	1,5 a; βγ	2,5 a; α	2,0 a; αβ	1,0 a; γ
0,1	1,6 a; α	1,4 b; α	1,1b; α	0,5 a; β

Angka yang diikuti oleh huruf abc dalam kolom yang sama atau αβγ dalam baris yang sama tidak berbeda nyata pada uji lanjut LSD 5%.

**Tabel 10.** Pengaruh interaksi PBZ dan BA terhadap jumlah akar *A. reineckii in vitro* pada bulan ke-6.

BA (mg/l)	PBZ (mg/l)			
	0,1	0,3	0,5	0,7
0,0	16,5 a; β	20,9 a; α	10,4 a; γ	10,1 a; γ
0,1	8,1 b; α	0,8 b; β	0,0 b; β	0,0 b; β

Angka yang diikuti oleh huruf abc dalam kolom yang sama atau αβγ dalam baris yang sama tidak berbeda nyata pada uji lanjut LSD 5%.

Pada pembentukan jumlah daun, berdasarkan analisis ragam perlakuan BA yang diberikan tidak berpengaruh nyata sedangkan pengaruh perlakuan PBZ sangat nyata. Pada Tabel 12 dapat dilihat bahwa pada PBZ 0,3 hingga 0,7 mg/l daun yang dihasilkan semakin sedikit.

Pertumbuhan biakan pada media perlakuan PBZ dapat dilihat pada Gambar 2. Visual biakan

pada media kombinasi PBZ 0,7 mg/l + BA 0,1 mg/l tampak lebih tegar dibanding dengan tanpa BA (d dan h). Pertumbuhan biakan pada media MS 0 (media dasar MS tanpa zat pengatur tumbuh) umur 3 bulan dapat dilihat pada Gambar 2i, terlihat sangat berbeda bila dibanding dengan perlakuan PBZ.

**Tabel 11.** Pengaruh interaksi PBZ dan BA terhadap panjang akar *A. reinecki* *in vitro* pada bulan ke-6.

BA (mg/l)	PBZ (mg/l)			
	0,1	0,3	0,5	0,7
	----- cm -----			
0,0	0,45 a; $\alpha$	0,41 a; $\alpha$	0,43 a; $\alpha$	0,43 a; $\alpha$
0,1	0,48 a; $\alpha$	0,00 b; $\beta$	0,00 b; $\beta$	0,00 b; $\beta$

Angka yang diikuti oleh huruf abc dalam kolom yang sama atau  $\alpha\beta\gamma$  dalam baris yang sama tidak berbeda nyata pada uji lanjut LSD 5%.

**Tabel 12.** Pengaruh PBZ terhadap jumlah daun *A. reineckii* *in vitro* pada bulan ke 6.

PBZ (mg/l)	Jumlah daun
0,1	15,9 b
0,3	20,8 a
0,5	12,3 bc
0,7	10,2 c

Angka dalam kolom yang sama diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji LSD 5%.

Penelitian ini menunjukkan bahwa media MS + BA 0,0 dan 0,1 mg/l dikombinasikan dengan PBZ 0,1, 0,3, 0,5, dan 0,7 mg/l yang digunakan untuk penyimpanan dapat menghambat pertumbuhan *B. australis* dan *A. reineckii* pada tinggi tunas, jumlah tunas, jumlah dan panjang akar, serta jumlah daun bila dibanding dengan kontrol (hanya media MS). Walau pertumbuhan tinggi tunas sangat pendek, biakan pada penelitian ini masih segar yang ditandai dengan biakan berwarna hijau pada *B. australis* dan merah pada *A. reineckii* setelah penyimpanan *in vitro* selama 6 bulan. Sementara itu, dari seluruh kombinasi formula media yang diaplikasikan, dapat disimpulkan bahwa formula media dasar MS dengan penambahan kombinasi BA 0,1 mg/l dan PBZ 0,3–0,7 mg/l dapat diaplikasikan untuk konservasi *in vitro* *B. australis* dan *A. reineckii*. Media tersebut dapat digunakan untuk penyimpanan aksesori tanaman hias akuatik yang lain, sehingga punahnya tanaman tersebut dapat dihindari dan biakan yang disimpan di dalam kultur *in vitro* dapat dimanfaatkan sewaktu-waktu apabila diperlukan.

## KESIMPULAN

PBZ dapat menghambat pertumbuhan tinggi tunas, jumlah tunas, jumlah akar, panjang akar, dan jumlah daun dari biakan *in vitro* *Bacopa australis* dan *Alternanthera reineckii*. Penambahan sitokinin BA 0,1 mg/l ke dalam media yang telah mengandung PBZ juga dapat menghambat pertumbuhan tinggi tunas, jumlah tunas, jumlah akar, panjang akar, dan jumlah daun. Dengan demikian aplikasi PBZ dan BA dapat diterapkan untuk tujuan konservasi *in vitro*, khususnya untuk plasma nutfah akuatik.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan kerja sama antara Balai Riset Budidaya Ikan Hias, Kementerian Kelautan dan Perikanan dengan Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian (BB Biogen), Kementerian Pertanian. Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang terlibat dalam pelaksanaan penelitian kultur *in vitro* pada tanaman hias akuatik ini hingga dapat diselesaikan dengan baik.



## DAFTAR PUSTAKA

- Cruz-Cruz, C.A., Gonzalez-Arno, M.T. & Engelmann, F. (2013) Biotechnology and conservation of plant biodiversity. *Resources*, 2 (2), 73–95.
- Dewi, N., Dewi, I.S. & Tambunan, I.R. (2013) Pemanfaatan teknik kultur *in vitro* untuk konservasi plasma nutfah ubi-ubian. *Jurnal AgroBiogen*, 10 (1), 34–44.
- Engelmann, F. (2011) Use of biotechnologies for the conservation of plant biodiversity. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 47 (1), 5–16. doi: 10.1007/s11627-010-9327-2.
- Gonzalez-Arno, M.T., Panta, A., Roca, W.M., Escobar, R.H. & Engelmann, F. (2008) Development and large scale application of cryopreservation techniques for shoot and somatic embryo cultures of tropical crops. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 92 (1), 1–13. doi: 10.1007/s11240-007-9303-7.
- Huang, H.P., Wang, J., Huang, L.Q., Gao, S.L., Huang, P. & Wang, D.L. (2014) Germplasm preservation *in vitro* of *Polygonum multiflorum* Thunb. *Pharmacognosy Magazine*, 10 (38), 179–184. doi: 10.4103/0973-1296.131032.
- Ibrahim, M.S.D. (2015) Pengaruh pemberian paclobutrazol terhadap pertumbuhan bangle (*Zingiber purpureum* Roxb) dalam penyimpanan *in vitro*. *Buletin Penelitian Tanaman Rempah dan Obat*, 16 (2), 49–55. doi: 10.21082/bullitro.v16n2.2005.p.
- Indrayanti, R., Putri, R.E., Sedayu, A. & Adisyahputra (2018) Effect of paclobutrazol for *in vitro* medium-term storage of banana variant cv. Kepok (*Musa acuminata* × *balbisiana* Colla). In: Siswanto, D., Mastuti, R., Huyop, F.Z. & Treesubstorn, C. (eds.) *AIP Conference Proceedings 2019, 010001. The 9<sup>th</sup> International Conference on Global Resource Conservation (ICGRC) and AJI from Ritsumeikan University. Malang, 7–8 March 2018*. Melville, AIP Publishing, pp 1–9. doi: 10.1063/1.5061845.
- Kamińska, M., Skezypek, E., Wilmowicz, E., Tretyn, A. & Trejgell (2016) Effect of light conditions and ABA on cold storage and post-storage propagation of *Taraxacum pinnatum*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 127 (1), 25–34. doi: 10.1007/s11240-016-1026-1.
- Lestari, E.G. (2018) Pemanfaatan kultur jaringan untuk perbanyakan, produksi metabolit sekunder dan penyimpanan tanaman obat. Dalam: Sabran, M., Lestari, E.G., Utami, D.W., Purnamaningsih, R., Suryadi, Y., Tasma, I.M., Mastur, Sustiprijatno & Wibisono, R.A.S. (editor) *Bunga Rampai: Pemanfaatan SDG dan Bioteknologi untuk Mendukung Pertanian Berkelanjutan*. Jakarta, IAARD Press, hlm. 131–154.
- Lestari, E.G. & Purnamaningsih, R. (2016) Penyimpanan *in vitro* tanaman obat daun dewa melalui pertumbuhan minimal. *Jurnal AgroBiogen*, 1 (2), 68–72. doi: 10.21082/jbio.v1n2.2005.p68-72.
- Nugraha, M.F.I., Yunita, R., Lestari E.G. & Ardi, I. (2017) Pembentukan *mother plant Bacopa australis* secara *in vitro* dan aklimatisasi dalam *aquascape* air tawar. *Media Akuakultur*, 12 (2), 85–94. doi: 10.15578/ma.12.2.2017.85-94.
- Roostika, I., Purnamaningsih, R. & Darwati, I. (2009) Penyimpanan *in vitro* tanaman purwoceng (*Pimpinella pruatjan* Molck.) melalui aplikasi pengenceran media dan paclobutrazol. *Jurnal Penelitian Tanaman Industri*, 15 (2), 84–90.
- Sianipar, N.F., Naftalia & Purnamaningsih, R. (2019) *In vitro* preservation of rodent tuber (*Typhonium flagelliforme* Iodd.) Pekalongan accession with paclobutrazol. *Jurnal Teknologi*, 3, 49–55. doi: 10.11113/jt.v81.12818.
- Silva, T. dos S., Nepomuceno, C.F., Soares, T.L. & de Santana, J.R.F. (2019) *In vitro* conservation of *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L.P. Queiroz under minimal growth conditions. *Ciencia e Agrotecnologia*, 43, e014519. doi: 10.1590/1413-7054201943014519.
- Te-chato, S., Nujeen, P. & Muangsorn, S. (2009) Paclobutrazol enhance budbreak and flowering of Friederick's Dendrobium orchid *in vitro*. *Journal of Agricultural Technology*, 5 (1), 157–165.
- Verma, P., Mathur, A.K., Jain, S.P. & Mathur, A. (2012) *In vitro* conservation of twenty-three overexploited medicinal plants belonging to the Indian sub continent. *The Scientific World Journal*, 2012, ID 929650 2012. doi: 10.1100/2012/929650.

Yunita, R. Lestari, E.G., Mastur & Nugraha, M.F.I. (2018)  
Perbanyak tanaman hias air *Bacopa australis*  
secara *in vitro* pada berbagai formulasi hormon  
media pertumbuhan. *Media Akuakultur*, 13 (2),  
75–82. doi: 10.15578/ma.13.2.2018.75-82.

---