

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kacang Tanah

Kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) merupakan jenis tanaman polong-polongan yang banyak mengandung protein nabati dan dapat dikonsumsi dalam berbagai bentuk, antara lain sebagai bahan sayur, saus, dan di goreng atau di rebus.

Sebagai bahan industri dapat dibuat keju, mentega, sabun, dan minyak. Daun kacang tanah juga dapat digunakan untuk pakan ternak dan pupuk. Sebagai bahan pangan dan pakan ternak yang bergizi tinggi, kacang tanah mengandung lemak (40—50%), protein (27%), karbohidrat, serta vitamin (A, B, C, D, E, dan K). Disamping itu, juga mengandung bahan-bahan mineral, antara lain Ca, Cl, Fe, Mg, P, K, dan S (Suprpto, 1993).

Kacang tanah diyakini berasal dari bagian selatan Bolivia di Argentina Utara karena karakter primitifnya mirip dengan plasma nutfah dari daerah ini.

Berdasarkan taksonomi tumbuhan, tanaman ini digolongkan dalam tanaman *Angiospermae*, kelas *Dicotyledoneae*, ordo *Rosales*, Famili *Papilionaceae*, dan Genus *Arachis*. Di Indonesia, kacang tanah sebagian besar ditanam di lahan kering dan sebagian kecilnya di lahan sawah.

Adisarwanto (2000), mengelompokkan kacang tanah menjadi tiga tipe, yaitu *Valensia*, *Spanish*, dan *Virginia*. Varietas kacang tanah, baik varietas lokal maupun varietas unggul, yang umum ditanam adalah tipe *Spanish* yang bercirikan polong berbiji 1—2. Walaupun demikian, masih ada kacang tanah yang ditanam dengan tipe *Valensia* yang dicirikan dari polong berbiji 3—4. Sedangkan di daerah subtropis kebanyakan termasuk tipe *Virginia*.

Secara garis besar, kacang tanah dibedakan menjadi dua tipe yaitu tipe tegak (*buch type*) dan tipe menjalar (*runner type*). Kacang tanah tipe tegak lebih banyak dibudidayakan karena umurnya pendek, 100—120 hari, sehingga lebih cepat panen dan buahnya terdapat pada ruas-ruas yang dekat rumpun sehingga masakannya bisa bersamaan. Sedangkan kacang tanah tipe menjalar sebagian besar hanya merupakan koleksi plasma nutfah di balai-balai penelitian dan biologi di Indonesia. Berbeda dengan kacang tanah tipe tegak, kacang tanah tipe menjalar mempunyai percabangan yang tumbuh kesamping tetapi ujung-ujungnya mengarah ke atas. Tipe ini umumnya berumur antara 6—7 bulan, kira-kira 180—210 hari dan tiap ruas yang berdekatan dengan tanah akan menghasilkan buah sehingga masakannya tidak bersamaan (Suprpto, 1993).

Batang kacang tanah berukuran pendek, berbuku-buku dengan tipe pertumbuhan tegak. Buku-buku atau ruas yang terletak di dalam tanah merupakan tempat melekatnya akar, bunga dan buah (Rukmana, 1995). Setiap buku yang berdekatan dengan tanah akan mengeluarkan *ginofor* yang akan membentuk polong di dalam tanah, namun hanya sebagian kecil yang dapat membuat polong beruas pada saat matang sempurna (Sutarto *et al.*, 1988).

Daun kacang tanah merupakan daun majemuk bersirip genap, terdiri atas empat anak daun dengan tangkai daun agak panjang dan mulai gugur pada akhir masa pertumbuhan. Kacang tanah berakar tunggang dengan akar cabang yang tumbuh tegak lurus pada akar tunggang tersebut (Suprpto, 1993). Pertumbuhan akar menyebar ke semua arah sedalam ± 30 cm dari permukaan tanah, sehingga dapat bersimbiosis dengan bakteri *Rhizobium radicola*, pada bintil-bintil akar dalam menambat N_2 bebas di udara (Rukmana, 1995).

Kacang tanah berbunga kira-kira pada umur 4—5 minggu, bunga keluar dari ketiak daun berbentuk kupu-kupu, bertangkai panjang dan berwarna kuning. Bunga kacang tanah dapat melakukan penyerbukan sendiri, penyerbukannya terjadi sebelum bunganya mekar (Suprpto, 1993). Bakal buah tumbuh memanjang ke bawah menuju tanah yang disebut *ginofor*. Setelah masuk kedalam tanah dan proses pemanjangan selesai, ujung *ginofor* akan membengkak membentuk polong kacang tanah (*rolist*). Proses pematangan polong atau buah kacang tanah berlangsung terus hingga matang fisiologis selama 90 hari setelah tanam (Sutarto *et al.*, 1988). Varietas unggul kacang tanah ditandai dengan karakteristik yaitu: daya hasil tinggi, umur pendek (genjah) antara 85-90 hari, hasilnya stabil, tahan terhadap penyakit utama (karat dan bercak daun), toleran terhadap kekeringan atau tanah becek (Anonim, 2008).

Keunggulan suatu varietas unggul ditandai dengan sifat-sifat baik yang diwariskan kepada generasi selanjutnya, salah satu syarat terpenting dari varietas kacang tanah adalah ketahanan terhadap penyakit layu, disamping produksi tinggi dan berumur genjah (Sutarto *et al.*, 1988).

Sumber genetik (plasma nutfah) tanaman kacang tanah berasal dari Brazilia cocok untuk ditanam pada dataran rendah dengan ketinggian 500 dpl, kondisi iklim bersuhu tinggi (panas) antara 28—32° C, dan kondisi kelembaban yang sedikit lembab antara 65—75%. Curah hujan berkisar antara 800 mm—1300 mm/th, pada tempat terbuka dan musim kering dengan struktur tanah ringan yaitu jenis regosol, andosol, latosol, dan alluvial (Rukmana, 1995).

2.2 Teknik Kultur Jaringan

Kultur jaringan merupakan metode untuk mengisolasi bagian tanaman seperti protoplasma, sel, sekelompok sel, jaringan dan organ, serta menumbuhkannya dalam kondisi aseptik secara *in vitro*, sehingga bagian-bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman lengkap (Gunawan, 1988). Dasar dari penerapan dan pengembangan teknik ini adalah teori totipotensi sel, yaitu bahwa setiap sel tanaman yang hidup dilengkapi dengan informasi genetik dan perangkat fisiologis yang lengkap untuk tumbuh dan berkembang menjadi tanaman utuh, jika kondisinya sesuai (Yusnita, 2003).

Salah satu penerapan teknik kultur jaringan ini adalah perbanyak mikro terutama untuk beberapa jenis tanaman yang biasa diperbanyak secara vegetatif. Perbanyak mikro yaitu usaha menumbuhkan bagian tanaman dalam media aseptik, dan memperbanyak hingga menghasilkan tanaman sempurna (Gunawan, 1988). Teknik kultur jaringan mempunyai beberapa kelebihan yaitu : (1) dapat menghasilkan jumlah bibit tanaman yang banyak dalam waktu yang relatif singkat sehingga lebih ekonomis, (2) tidak memerlukan tempat yang luas, (3) dapat

dilakukan sepanjang tahun tanpa bergantung pada musim, (4) bibit yang dihasilkan lebih sehat, (5) memungkinkan dilakukannya manipulasi genetik. Namun, teknik ini juga mempunyai kelemahan antara lain: (1) dibutuhkan biaya awal yang relatif tinggi untuk laboratorium dan bahan kimia, (2) dibutuhkan keahlian khusus untuk melaksanakannya, (3) tanaman yang dihasilkan berukuran kecil, aseptik, dan terbiasa hidup di tempat yang berkelembaban tinggi sehingga memerlukan aklimatisasi ke lingkungan eksternal (Yusnita, 2003).

Perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan dapat dilakukan dengan organogenesis dan embriogenesis. Embriogenesis somatik pada tanaman mempunyai beberapa tahapan perkembangan yang spesifik, seperti induksi kalus embriogenik atau embrio somatik (pembentukan langsung), pemeliharaan, pendewasaan, perkecambahan, dan aklimatisasi (Lelu *et al.*, 1993).

2.3 Eksplan

Eksplan merupakan bahan tanam yang akan dikulturkan secara *in vitro*. Bagian tanaman yang digunakan sebagai eksplan adalah jaringan muda yang sedang tumbuh aktif, karena pada jaringan yang masih muda mempunyai daya regenerasi lebih tinggi, sel-selnya masih aktif membelah diri, dan relatif lebih bersih (mengandung lebih sedikit kontaminan). Misalnya, biji atau bagian-bagian biji seperti aksis embrio atau kotiledon, tunas pucuk, potongan batang satu buku (*nodal explant*), potongan akar, empulur batang, umbi lapis dengan sebagian batang, dan bagian bunga (Yusnita, 2003).

Eksplan yang berukuran kecil mempunyai kemampuan bertahan hidup dan kecepatan tumbuh yang rendah, tetapi kemungkinan mendapatkan kultur yang bebas mikroorganisme tinggi. Eksplan yang berukuran lebih besar, lebih banyak mengandung cadangan makanan dan zat pengatur tumbuh sehingga lebih mampu bertahan hidup dan lebih cepat tumbuh dan beregenerasi dibandingkan dengan eksplan yang berukuran kecil (Murashige, 1974). Dalam kultur jaringan tanaman kacang tanah, bagian-bagian biji tanaman dapat digunakan sebagai sumber eksplan. Meristem apikal dari embrio zigot dapat digunakan untuk regenerasi tunas secara *in vitro* tanaman kacang tanah hasil transformasi genetik (Schnall dan Weissinger, 1993 dalam Kanyand *et al.*, 1994).

2.4 Medium Kultur Jaringan

Keberhasilan dalam penggunaan metode kultur jaringan, sangat bergantung pada media yang digunakan. Media kultur jaringan menyediakan tidak hanya unsur hara-unsur hara makro dan mikro, tetapi juga karbohidrat yang pada umumnya berupa gula untuk menggantikan karbon yang biasanya didapat dari *atmosphere* melalui fotosintesis. Media kultur tersusun dari beberapa komponen yaitu: (1) unsur hara makro, (2) unsur hara mikro, (3) vitamin, (4) gula, (5) asam amino dan N organik, (6) persenyawaan kompleks alamiah seperti air kelapa, ekstrak kentang, juice tomat, ekstrak kentang dan sebagainya, (7) buffer, (8) arang aktif, (9) zat pengatur tumbuh, (10) bahan pematat (agar-agar) (Gunawan, 1988).

Beberapa macam media dasar umumnya diberi nama sesuai dengan nama penemunya antara lain adalah Murashige dan Skoog (MS), BS atau Gamborg, white, Vacint went (VC), Nitsch dan Nitsch, Schenle dan Hildebrandt, Woody Plant Medium (WPM) dan NG (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Menurut Pierik (1987), media dasar Murashige dan Skoog (MS) sangat populer karena media ini mampu mendukung kultur jaringan pada banyak tanaman.

Unsur hara makro yang dibutuhkan tanaman dalam kultur jaringan meliputi N, P, K, Ca, Mg, dan S, sedangkan unsur hara mikro meliputi Fe, Cu, Mn, Zn, B, Mo, dan Co. Penambahan beberapa senyawa organik dalam jumlah kecil seperti vitamin, mio-inositol, dan asam amino, dapat memperbaiki pertumbuhan dan organogenesis kultur *in vitro*. Vitamin yang sering digunakan dari kelompok vitamin B, yaitu tiamin- HCl (vitamin B1), piridoksin HCl (vitamin B6), asam nikotinat dan riboflavin (vitamin B2). Asam amino merupakan sumber N organik yang lebih mudah diabsorpsi daripada N anorganik dalam medium yang sama. Asam amino yang sering digunakan adalah L-glutamin, asam aspartat, L-arginin, dan glisin. Bagian tanaman atau eksplan yang dikulturkan umumnya tidak autotrof dan mempunyai laju fotosintesis rendah, maka disinilah peran gula sebagai sumber energi dalam media kultur. Gula yang sering digunakan adalah sukrosa (Yusnita, 2003).

Media kultur jaringan dapat berupa cair dan padat. Media cair berarti komponen-komponen zat kimia dengan air suling, sedangkan media padat adalah media cair tersebut dengan ditambah zat pematat agar (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Agar merupakan campuran polisakarida yang diperoleh dari beberapa *species algae*. Keuntungan dari pemakaian agar adalah : (1) agar membeku pada temperatur $\leq 45^{\circ}\text{C}$ dan mencair pada temperatur 100°C , sehingga agar akan berada dalam keadaan yang stabil, (2) agar-agar tidak dicerna oleh enzim tanaman, (3) tidak bereaksi dengan persenyawaan-persenyawaan penyusun media (Gunawan, 1988).

2.5 Zat Pengatur Tumbuh

Salah satu komponen media yang menentukan keberhasilan kultur jaringan adalah jenis dan konsentrasi ZPT yang digunakan. Dalam kultur jaringan, dua golongan ZPT yang sangat penting adalah sitokinin dan auksin. ZPT ini mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis dalam kultur sel, jaringan, dan organ. Auksin digunakan secara luas dalam kultur jaringan untuk merangsang pertumbuhan kalus, suspensi sel dan organ. Auksin sintetik yang sering digunakan dalam kultur jaringan tanaman adalah indole acetic acid (IAA), 2,4-D, naphtaleine acetic acid (NAA), indole butiric acid (IBA) dan picloram. Pemilihan jenis auksin dan konsentrasi, tergantung dari: (1) tipe pertumbuhan yang dikehendaki, (2) level auksin endogen, (3) kemampuan jaringan mensintesa auksin, (4) golongan zat tumbuh lain yang ditambahkan (Gunawan, 1988).

Menurut Pierik (1987), pembentukan kalus dan organogenesis ditentukan oleh penggunaan zat pengatur pertumbuhan yang tepat. Sitokinin bersama-sama dengan auksin memberikan pengaruh interaksi terhadap diferensiasi jaringan, berperan dalam pembelahan sel dan morfogenesis. Penggunaan perbandingan sitokinin yang lebih tinggi dari auksin akan merangsang inisiasi tunas, sedangkan sebaliknya akan merangsang perakaran. Penggunaan zat pengatur tumbuh tersebut secara seimbang akan merangsang pengkalusan (Skoog dan Miller, 1957).

Jenis sitokinin meliputi kinetin, benziladenin, 2ip (2-isopentenyl adenin) dan zeatin. Benziladenin (BA) merupakan jenis sitokinin yang efektif untuk merangsang pembentukan tunas, akan tetapi penggunaannya dalam konsentrasi yang tinggi dapat menyebabkan penyimpangan seperti terbentuknya tunas abnormal.

2.6 Lingkungan Kultur

Lingkungan kultur adalah kondisi fisik tempat suatu kultur ditumbuhkan.

Lingkungan kultur meliputi cahaya, temperatur, dan kelembaban. Dalam teknik kultur jaringan tanaman, cahaya dinyatakan dengan dimensi lama penyinaran, intensitas, dan kualitasnya. Cahaya dibutuhkan untuk mengatur proses morfogenetik tertentu. Energi radiasi dekat spektrum ultra violet dan biru merupakan kualitas cahaya yang paling efektif untuk merangsang pembentukan tunas, sedangkan pembentukan akar dirangsang oleh cahaya merah dan sedikit cahaya biru, untuk itu, pada tahap inisiasi dan multiplikasi tunas digunakan

pencahayaan dengan lampu fluorescent (TL), intensitas cahaya yang optimum untuk tanaman pada kultur tahap inisiasi kultur adalah 0—1.000 lux, tahap multiplikasi sebesar 1.000—10.000 lux, tahap pengakaran sebesar 10.000—30.000 lux, dan tahap aklimatisasi sebesar 30.000 lux (Yusnita, 2003).

Pembentukan kalus maksimal terjadi di tempat yang lebih gelap (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Temperatur yang baik untuk pertumbuhan kultur *in vitro* adalah antara 25—28°C. Temperatur di dalam ruang kultur menentukan tanggapan fisiologis dan kecepatan pertumbuhan eksplan. Kelembaban relatif dalam ruang kultur yang dikehendaki untuk pertumbuhan kultur sekitar 70—100 % sehingga kultur terhindar dari kekeringan (George dan Sherrington, 1984).

2.7 Embriogenesis somatik

Perbanyakan *in vitro* tanaman dapat dilakukan dengan dua cara yaitu dengan organogenesis dan embriogenesis somatik. Dibandingkan dengan teknik organogenesis, regenerasi tanaman melalui embriogenesis somatik memiliki beberapa keunggulan karena mampu menghasilkan embrio bipolar dari sel atau jaringan vegetatif. Embrio somatik dapat diinduksi secara langsung dari jaringan eksplan atau secara tidak langsung melalui fase kalus (Litz dan Gray, 1995).

Keunggulan embrio somatik yaitu jaringan meristem akar dan pucuk telah terbentuk pada saat embrio somatik masak, bentuk anatomi dan sifatnya serupa dengan embrio zigotik benih biasa. Bibit yang diinginkan dengan mudah dapat dihasilkan hanya dengan mengecambahkan embrio yang masak tersebut.

Keberhasilan regenerasi melalui embriogenesis somatik dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain jenis eksplan yang digunakan dan formulasi media yang berbeda pada setiap tahap perkembangan embrio somatik (Sukmadjaja, 2005). Selain itu, keberhasilan akan tercapai apabila kalus atau sel yang digunakan bersifat embriogenik yang dicirikan oleh sel yang berukuran kecil, sitoplasma padat, inti besar, vakuola kecil-kecil dan mengandung butir pati. Embrio somatik dapat dihasilkan dalam jumlah besar dari kultur kalus, namun untuk tujuan perbanyakan dalam skala besar, jumlahnya kadang-kadang dapat lebih ditingkatkan melalui inisiasi sel embriogenik dari kultur suspensi yang berasal dari kalus primer (Wiendi *et al.*, 1991).

Selain keuntungan, terdapat beberapa kendala dalam penerapan embriogenesis, yaitu peluang terjadi mutasi lebih tinggi, metode lebih sulit, ada penurunan daya morfogenesis dari kalus embriogenik karena subkultur berulang serta memerlukan penanganan yang lebih intensif karena kultur lebih rapuh. Namun demikian, variasi yang dihasilkan sering dianggap menguntungkan karena dapat digunakan sebagai sumber keragaman genetik (*gene pool*) (Henry *et al.*, 1998 dalam Gaj, 2001).