

**OPTIMASI MULTIPLIKASI KAYU PUTIH (*Melaleuca cajuputi*)
SECARA *IN VITRO***

MISBAHULJANNAH

M021201009



**PROGRAM STUDI REKAYASA KEHUTANAN
FAKULTAS KEHUTANAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**OPTIMASI MULTIPLIKASI KAYU PUTIH (*Melaleuca cajuputi*)
SECARA *IN VITRO***

MISBAHULJANNAH

M021201009

SKRIPSI

PROGRAM STUDI REKAYASA KEHUTANAN

pada

PROGRAM STUDI REKAYASA KEHUTANAN

DEPARTEMEN KEHUTANAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2024

SKRIPSI

OPTIMASI MULTIPLIKASI KAYU PUTIH (*Melaleuca cajuputi*) SECARA IN VITROMISBAHULJANNAH

M021201009

Skripsi,

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian yang dibentuk dalam
rangka penyelesaian Sarjana S-1 Rekayasa Kehutanan
pada 23 Juli 2024

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan
pada

Program Studi Rekayasa Kehutanan
Fakultas Kehutanan
Universitas Hasanuddin
Makassar

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping I,

Pembimbing Pendamping II,

Ir. Mukrimin, S.Hut., M.P., Ph.D., IPU
NIP 197802092008121001

Dr. Siti Halimah Larekeng, S.P., M.P.
NIP 198202092015042002

Nur A'ida, S.Hut., M.Hut
NIP 198304152001122001

Mengetahui,

Ketua Program Studi



Dr. Siti Halimah Larekeng, S.P., M.P.
NIP 198202092015042002

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, skripsi berjudul "Optimasi Multiplikasi Kayu Putih (*Melaleuca cajuputi*) secara *In Vitro*) adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing (Bapak Ir. Mukrimin, S.Hut., M.P., Ph.D., IPU. sebagai pembimbing utama, Bapak Dr. Siti Halimah Larekeng, S.P., M.sebagai pembimbing pendamping dan Ibu Nur A'ida, S.Hut., M.Hut. sebagai pembimbing pendamping). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka skripsi ini. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan peraturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa skripsi ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 23 Juli 2024

Yang Menyatakan



Handwritten signature of Misbahuljannah.

Misbahuljannah

ABSTRAK

MISBAHULJANNAH. OPTIMASI MULTIPLIKASI KAYU PUTIH (*MELALEUCA CAJUPUTI*) SECARA *IN VITRO* dibawah bimbingan Mukrimin, Siti Halimah Larekeng dan Nur A'ida).

Melaleuca cajuputi adalah salah satu jenis pohon penghasil bukan kayu yang memiliki manfaat baik sebagai tanaman penghijauan maupun sebagai tanaman penghasil minyak kayu putih. Upaya untuk mendukung peningkatan kebutuhan *M. cajuputi* dimulai dengan mengetahui teknik perbanyakan yang digunakan. Perbanyakan *M. cajuputi* secara generatif dan vegetatif konvensional stek membutuhkan waktu yang relatif lama sehingga dilakukan perbanyakan secara vegetatif modern yaitu kultur jaringan. Multiplikasi merupakan salah satu tahapan kultur jaringan dengan tujuan utama yaitu perbanyakan tunas. Keberhasilan multiplikasi sangat dipengaruhi oleh Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) yang digunakan dalam media. *Benzyl Amino Purine* (BAP) merupakan ZPT yang memberikan pengaruh utama dalam pembentukan tunas. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan konsentrasi ZPT berupa BAP yang tepat untuk mendukung proses multiplikasi *M. cajuputi*. Metode penelitian dimulai dari tahapan sterilisasi alat, pembuatan media, inisiasi benih *M. cajuputi*, multiplikasi dan pengamatan. Data yang diperoleh dilakukan analisis ragam (ANOVA) dan uji korelasi menggunakan program SPSS serta analisis Komponen Utama (PCA) menggunakan *MiniTab Statistical Software*. Hasil penelitian menunjukkan media *Murashige and Skoog* (MS) dengan penambahan ZPT berupa BAP 1 ppm merupakan media yang optimal untuk pembentukan tunas dalam perbanyakan atau multiplikasi *M. cajuputi* secara *in vitro*.

Kata kunci: *Benzyl Amino Purine* (BAP), Kultur Jaringan *Melaleuca cajuputi*, Multiplikasi

ABSTRACT

MISBAHULJANNAH. OPTIMIZATION OF MULTIPLICATION *Melaleuca cajuputi* IN VITRO supervised by Mukrimin, Siti Halimah Larekeng and Nur A'ida.

Melaleuca cajuputi is a non-wood-producing tree that benefits both as a greening plant and as an eucalyptus oil-producing plant. Efforts to support the increase in the need for *M. cajuputi* begin by knowing the propagation techniques used. Propagation of *M. cajuputi* generatively and vegetatively by cuttings takes a relatively long time, so modern vegetative propagation is carried out, namely tissue culture. Multiplication is one of the stages of tissue culture with the primary goal of bud propagation. The success of multiplication is greatly influenced by the Growth Regulators used in the media. Benzyl Amino Purine (BAP) is a Growth Regulator that exerts a major influence on bud formation. This study aims to obtain the right concentration of Growth Regulators in the form of BAP to support the multiplication process of *M. cajuputi*. The research method starts from the sterilization stages of the instrument, making media, initiation of *M. cajuputi* seeds, multiplication, and observation. The data obtained were carried out Analysis Of Variance (ANOVA) and correlation test using the SPSS program and Principal Component Analysis (PCA) using Minitab Statistical Software. The findings showed that Murashige and Skoog (MS) media with growth regulators added at 1 ppm levels was the best medium for *M. cajuputi* to grow or multiply in a lab setting in order to form buds.

Keywords: Benzyl Amino Purine (BAP), *Melaleuca cajuputi*, Multiplication, Tissue Culture

KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat Allah SWT yang telah melimpahkan petunjuk dan rahmat-Nya sehingga penelitian dan penulisan skripsi yang berjudul “Optimasi Multiplikasi Kayu Putih (*Melaleuca cajuputi*) secara *In Vitro*” dapat diselesaikan dengan baik. Skripsi ini disusun dan diajukan untuk memenuhi sebagian persyaratan memperoleh gelar kesarjanaan di Program Studi Rekayasa Kehutanan fakultas Kehutanan Universitas Hasanuddin.

Penulis menyadari dalam penulisan skripsi ini, berbagai pihak telah banyak memberikan dorongan, bantuan, serta masukan sehingga dalam kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih sebesar- besarnya kepada:

1. Orang tua tercinta yang selalu memberikan motivasi, dukungan, dan doa serta saudara dan kerabat lainnya yang juga memberikan dukungan dengan caranya masing- masing.
2. Bapak Ir. Mukrimin, S.Hut., M.P., Ph.D., IPU dan Ibu Dr. Siti Halimah Larekeng, SP., MP. selaku dosen pembimbing yang telah memberikan inspirasi yang luar biasa dalam bentuk bimbingan maupun diskusi serta saran- saran yang mendukung pelaksanaan penelitian dan penulisan skripsi.
3. Ibu Nur A'ida, S.Hut., M. Hut juga selaku pembimbing dan staf Laboratorium Kultur Jaringan Balai Perbenihan Tanaman Hutan (BPTH) Wilayah II (Nur Afni Andi Hasan, SP; Arindah Upik Masitha, SP; Wiwik Aspianti Tuasikal, S.Si; dan Sri Wahyuni, S.Si) yang membantu dalam proses pelaksanaan penelitian, memberikan saran dalam penulisan skripsi, serta telah memberikan fasilitas dan izin kepada penulis untuk melakukan penelitian.
4. Bapak Prof. Dr. Ir. Muhammad Restu, M.P. dan Bapak Agussalim, S.Hut., M.Si. selaku penguji yang telah memberikan sanggahan dan saran yang mendukung penulisan skripsi ini.
5. “Tim penelitian kultur jaringan BPTH WIL.II” Nur Fadillah Andriani, Eunike Christafilia Ruben dan Wahyuningsih selaku partner selama pelaksanaan penelitian dan penulisan skripsi. Penulis sangat beruntung dipertemukan dengan mereka yang telah mendengarkan, membantu dan bersabar menghadapi keluh kesah penulis.
6. Keluarga besar Rekayasa Kehutanan 2020 untuk segala bantuan dan motivasi selama perkuliahan.
7. Seluruh pihak yang secara langsung maupun tidak langsung telah membantu penulis dalam proses penelitian dan penulisan skripsi ini.

Penulis berharap sekiranya skripsi ini dapat memberikan manfaat dan tambahan referensi perkembangan ilmu kehutanan khususnya dibidang bioteknologi dan pemuliaan pohon. Sebagai penutup, penulis mengucapkan permohonan maaf apabila terdapat kekurangan dalam penyusunan skripsi ini.

Makassar, Juli 2024

Misbahuljannah

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPEL	
LEMBAR PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	iv
DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Teori	2
BAB II. METODE PENELITIAN	4
2.1 Waktu dan Tempat	4
2.2 Alat Penelitian	4
2.5 Prosedur Pelaksanaan	5
2.5.1 Sterilisasi Alat	5
2.5.2 Pembuatan Media	5
2.5.3 Sterilisasi Alat Penanaman	6
2.5.4 Persiapan Eksplan	6
2.5.5 Multiplikasi	6
2.6 Rancangan Penelitian	7
2.7 Variabel Pengamatan	7
2.8 Analisis Data	7
BAB III. HASIL DAN PEMBAHASAN	9
3.1 Waktu Muncul Tunas <i>M. cajuputi</i>	9
3.2 Waktu Muncul Daun <i>M. cajuputi</i>	10

3.3	Jumlah Tunas <i>M. cajuputi</i>	11
3.4	Jumlah Helai Daun <i>M. cajuputi</i>	12
3.5	Tinggi Planlet <i>M. cajuputi</i>	14
3.6	Analisis Korelasi.....	16
BAB IV. KESIMPULAN.....		19
4.1	Kesimpulan	19
DAFTAR PUSTAKA		20
LAMPIRAN		23

DAFTAR TABEL

No. Urut	Halaman
1. Komposisi Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) pada media yang digunakan untuk tahap multiplikasi <i>M. cajuputi</i> secara <i>In Vitro</i>	7
2. Interpretasi koefisien nilai r	8
3. Hasil uji lanjut Tukey waktu muncul tunas <i>M. cajuputi</i>	9
4. Hasil uji lanjut Tukey jumlah tunas <i>M. cajuputi</i>	11
5. Hasil uji lanjut Tukey jumlah helai daun <i>M. cajuputi</i>	13
6. Hasil uji lanjut Tukey tinggi planlet <i>M. cajuputi</i>	15
7. Hasil pengujian korelasi antar parameter pengamatan multiplikasi <i>M.cajuputi</i> .	16

DAFTAR GAMBAR

No. Urut	Halaman
1. Alur Penelitian	5
2. Boxplot waktu muncul tunas <i>M. cajuputi</i> pada berbagai media.....	9
3. Boxplot waktu muncul daun <i>M. cajuputi</i> pada berbagai media	10
4. Boxplot jumlah jumlah tunas <i>M. cajuputi</i> pada berbagai media	12
5. Boxplot jumlah helai daun <i>M. cajuputi</i> pada berbagai media	13
6. Kondisi planlet <i>M. cajuputi</i> pada media (a) B1 (MS+BAP 0 ppm), (b) B2 (MS+BAP 0,5 ppm), (c) B3 (MS+BAP 1 ppm), (d) B4 (MS+BAP 1,5 ppm) dan (e) B5 (MS+BAP 2 ppm).....	14
7. Boxplot jumlah tinggi planlet <i>M. cajuputi</i> pada berbagai media.....	15
8. Grafik loading plot PCA variabel/ parameter multiplikasi <i>M. cajuputi</i>	17
9. Grafik <i>score plot</i> PCA perlakuan pada multiplikasi <i>M. cajuputi</i>	18
10. (a) Pembuatan media, (b) Inisiasi benih kayu putih, (c) Hasil inisiasi kayu putih, (d) Multiplikasi <i>M. cajuputi</i> , (e) Pengamatan Waktu muncul tunas dan waktu muncul daun, (f) Pengamatan jumlah daun, jumlah tunas dan tinggi planlet <i>M. cajuputi</i>	27

DAFTAR LAMPIRAN

No. Urut	Halaman
1. Komposisi Media <i>Murashige and Skoog</i> (MS)	24
2. Hasil parameter pengamatan <i>M. cajuputi</i>	24
3. Hasil uji ANOVA data hasil pengamatan kultur jaringan <i>M. cajuputi</i>	25
4. Hasil uji lanjut Tukey waktu muncul tunas eksplan <i>M. cajuputi</i>	26
5. Hasil uji lanjut Tukey jumlah daun eksplan <i>M. cajuputi</i>	26
6. Hasil uji lanjut Tukey jumlah tunas eksplan <i>M. cajuputi</i>	26
7. Hasil uji lanjut Tukey tinggi planlet eksplan <i>M. cajuputi</i>	27
8. Dokumentasi kegiatan kultur jaringan <i>M. cajuputi</i>	27

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kayu putih (*Melaleuca cajuputi*) merupakan salah satu jenis pohon penghasil bukan kayu yang memiliki manfaat ganda. Tanaman *M. cajuputi* dapat ditemukan secara alami di kepulauan Maluku dan bagian utara Australia serta telah menyebar luas di Indonesia. *M. cajuputi* berfungsi sebagai tanaman penghijauan yang mampu memulihkan lahan-lahan yang kritis dan dapat tumbuh dengan baik di daerah-daerah dengan lahan yang marginal. Manfaat *M. cajuputi* ditinjau dari segi ekonomi yaitu sebagai tanaman penghasil minyak *M. cajuputi* (Wirtha, 2022). Peningkatan kebutuhan menjadi perhatian bagi pihak yang akan mengembangkan *M. cajuputi* sebagai bahan baku industri farmasi, industri makanan dan industri kosmetik (Ariyanti, 2022).

Upaya untuk mendukung peningkatan kebutuhan akan *M. cajuputi* dimulai dengan mengetahui teknik perbanyakan yang digunakan (Kadarisman, 2019). Perbanyakan tanaman *M. cajuputi* dapat dilakukan secara generatif dan vegetatif konvensional. Perbanyakan secara generatif jarang dilakukan karena membutuhkan waktu yang relatif lama jika dibandingkan dengan vegetatif konvensional berupa stek dianggap mudah dan cepat untuk ketersediaan bibit (Waeniati *et al.*, 2015). Kesulitan dari stek adalah persentasi pertumbuhan akarnya buruk yang dipengaruhi jenis klon dan umur atau tingkat kematangan dari material yang digunakan. Kondisi perakaran berpengaruh terhadap keberhasilan pertumbuhan bibit di lapang sehingga diperlukan upaya yang dapat meningkatkan kemampuan untuk berakar melalui teknik kultur jaringan (Sulichantini, 2016). Kultur jaringan digunakan untuk memperbaiki metode pemuliaan konvensional dan memodifikasi tanaman serta perbaikan tanaman. Keuntungan dari kultur jaringan adalah dapat dilakukan sepanjang tahun, tidak tergantung musim, terhindar dari hama penyakit, memerlukan ruang yang sempit untuk memproduksi bibit dalam jumlah besar dan kualitas serta hasil produknya lebih konsisten (Dwiyani, 2015).

Kultur jaringan memiliki beberapa tahapan yaitu inisiasi, multiplikasi, perakaran serta aklimatisasi. Keberhasilan tahapan dalam kultur jaringan dipengaruhi Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) yang digunakan dalam media. ZPT yang umum digunakan dalam kultur jaringan adalah sitokinin dan auksin. Peran auksin adalah dalam pembelahan sel, induksi kalus, induksi embriogenesis dan induksi akar. Sedangkan sitokinin berperan aktif untuk induksi tunas, multiplikasi tunas aksilar, menghambat pembesaran sel, menyediakan kondisi yang seimbang antara pembagian sel dan pembesaran sel serta sintesis protein (Sulichantini, 2015).

Penelitian yang dilakukan oleh Silmia, (2018) yaitu membandingkan 3 kombinasi ZPT berupa auksin yaitu *Naphthalene Acetic Acid* (NAA) (0 ppm; 0,05 ppm dan 0,1 ppm) dan sitokinin yaitu *Benzyl Amino Purin* (BAP) 1 ppm dengan tujuan mendapatkan kombinasi ZPT yang tepat pada media untuk menghasilkan respon pertumbuhan *M. cajuputi* yang baik. Penelitian ini menunjukkan kombinasi NAA 0 ppm dan BAP 1 ppm memberikan jumlah eksplan terbanyak ditinjau dari jumlah

tunas. Berdasarkan penelitian ini, BAP memiliki pengaruh utama dalam pembentukan tunas *M. cajuputi*. Penelitian yang dilakukan oleh Silmia, (2018) dapat dijadikan acuan penelitian lanjutan kultur jaringan *M.cajuputi* untuk tahapan multiplikasi.

Tahapan multiplikasi memiliki tujuan utama yaitu memperbanyak tunas atau pembentukan pucuk secara adventif. Sama halnya dengan tahapan inisiasi, multiplikasi juga dipengaruhi oleh jenis ZPT serta konsentrasi yang digunakan (Sulichantini, 2015). Penelitian induksi tunas melalui tahapan multiplikasi pada eksplan *M. cajuputi* belum pernah dilakukan sehingga perlu adanya penelitian mengenai penentuan konsentrasi ZPT BAP yang tepat untuk proses multiplikasi eksplan *M. cajuputi*. Multiplikasi dilakukan untuk mendukung keberhasilan kultur jaringan jenis *M.cajuputi* sehingga dapat dijadikan bahan informasi sekaligus bahan rujukan untuk memperbanyak tanaman *M. cajuputi* melalui teknik kultur jaringan.

1.2 Teori

M. cajuputi menghasilkan minyak atsiri berupa minyak *M. cajuputi* yang memiliki prospek usaha yang menjanjikan. Kabupaten Alor, Nusa Tenggara Timur (NTT) merupakan salah satu wilayah di Indonesia yang memiliki Potensi tanaman *M. cajuputi*. Alor memiliki potensi *M. cajuputi* seluas 1.040 ha yang tersebar di beberapa kecamatan. Data UPTD KPH tahun 2018- 2022, Kabupaten Alor memproduksi minyak mencapai 70 liter (Donusina *et al.*, 2024). Minyak tersebut dibutuhkan pada industri makanan sebagai bahan penyedap dan penambah cita rasa; industri farmasi sebagai obat anti nyeri, anti bakteri dan anti infeksi; industri kosmetik dan personal care products seperti sabun dan produk kecantikan; dan industri wewangian (Ariyanti, 2022). Tanaman penghasil minyak atsiri juga berpeluang dijadikan sebagai tanaman konservasi memiliki sifat diantaranya cepat tumbuh dan mampu tumbuh baik pada lahan-lahan marginal (Priswanto *et al.*, 2021). Tanaman *M. cajuputi* dapat tumbuh baik pada lahan tandus maupun lahan yang kurang subur (Rimbawanto *et al.*, 2021).

Penelitian Silmia, (2018) penggunaan kombinasi *Naphthaleneacetic Acid* (NAA) 0 ppm dan *Benzyl Amino Purine* (BAP) 1 ppm dalam media inisiasi dalam kultur jaringan *M. cajuputi* memberikan jumlah tunas terbanyak. Kultur jaringan *M. cajuputi* juga dilakukan oleh (Rizqiani, 2019) menunjukkan media ½ MS dengan penambahan ZPT BAP 0,3 mg/l dan NAA 0 mg/l sebagai media terbaik dalam inisiasi. Kultur jaringan *M. alternifolia* yang merupakan satu famili dengan *M. cajuputi* dilakukan oleh Chen *et al.*, (2016) menunjukkan media terbaik untuk inisiasi yaitu MS dengan penambahan kombinasi ZPT Benzil Amino (BA) 0,6 mg/l dan *Naphtaleine Acetic Acid* (NAA) 0,1 mg/l dengan tingkat inisiasi 75.9%. Sedangkan media multiplikasi terbaik yaitu dan kombinasi BA 0,3 mg/l dengan NAA 0,15 mg/l yang menghasilkan laju penggandaan tunas 4.3 dan panjang tunas 3,2 cm.

Multiplikasi (subkultur) merupakan bagian dari tahapan kultur jaringan dimana terjadi penggandaan propugal atau eksplan yang diperbanyak seperti tunas (Dwiyani, 2015). Parameter multiplikasi dapat diukur melalui jumlah tunas pada eksplan, jumlah daun, maupun tinggi tunas. Proses multiplikasi dapat didukung oleh

faktor abiotik seperti komposisi media, suhu ataupun cahaya penyimpanan. Selain itu, perbanyak tunas dalam tahapan multiplikasi membutuhkan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) (Herawan & Leksono, 2018). Penggunaan zat pengatur tumbuh dalam kultur jaringan tanaman berfungsi untuk mengontrol organogenesis dan morfogenesis dalam pembentukan dan perkembangan tunas dan akar serta pembentukan kalus. Perannya antara lain mengatur kecepatan pertumbuhan dari masing-masing jaringan dan mengintegrasikan bagian-bagian tersebut guna menghasilkan bentuk yang kita kenal sebagai tanaman. ZPT yang digunakan dalam pembentukan tunas pada umumnya digunakan sitokinin. Pada media kultur jaringan, sitokinin ditambahkan untuk tujuan peningkatan pembelahan sel dan diferensiasi dari kalus serta organ tanaman (Harahap, 2011).

Benzyl Amino Purine merupakan ZPT dari golongan sitokinin memiliki kemampuan merangsang pertumbuhan tunas lebih cepat, karena berperan aktif dalam memacu pembelahan sel. BAP adalah hormon tumbuhan turunan adenin yang berfungsi untuk merangsang pembelahan sel, morfogenesis, merangsang pertumbuhan cabang samping, merangsang perluasan daun atau merangsang pemanjangan titik tubuh daun (Yusron & Nopsagiarti, 2020). Zat pengatur tumbuh BAP dapat mendukung pertumbuhan tunas aksilar pada tanaman dengan menekan dominansi apikal yang disebabkan oleh aktivitas auksin endogen dalam eksplan (Satriawan *et al.*, 2021)

BAB II. METODE PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan selama 3 bulan yaitu pada bulan Februari sampai April 2024 berlokasi di Laboratorium Kultur Jaringan Balai Perbenihan Tanaman Hutan (BPTH) Wilayah II.

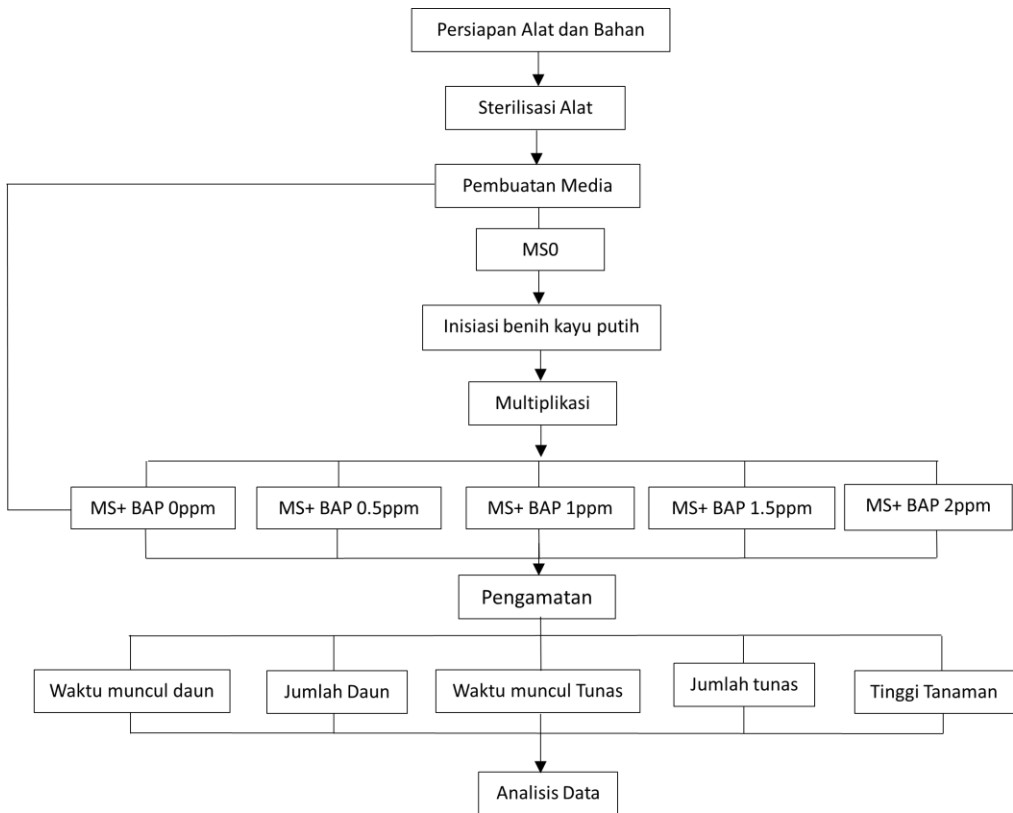
2.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), *autoclave*, oven, timbangan analitik, *microwave*, *hot plate* dan *magnetic stirrer*, lampu bunsen, pH meter, *micropipet*, alat gelas standar (gelas piala, gelas ukur, cawan petri, dan botol kultur). Alat diseksi (pinset, gagang, pisau skalpel dan gunting), rak kultur, korek api, *hand-sprayer*, *log book*, alat tulis-menulis dan alat dokumentasi.

2.3 Bahan Penelitian

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksplan berupa pucuk planlet hasil inisiasi benih *M. cajuputi*. Planlet *M. cajuputi* yang digunakan berumur 1 bulan di Laboratorium Kultur Jaringan Balai Perbenihan Tanaman Hutan (BPTH) Wilayah II Makassar. Benih yang digunakan berasal dari Kabupaten Alor, Nusa Tenggara Timur (NTT). Media dasar yang digunakan adalah media *Murashige and Skoog* (MS) yang terdiri atas larutan stok makro, stok mikro, stok Fe, stok vitamin, *Myo-Inositol*, glukosa yang dipadatkan dengan agar-agar pematik. ZPT yang digunakan yaitu *Benzyl Amino Purine* (BAP). Bahan sterilisasi yang digunakan adalah aquades, *bayclin*, alkohol dan spiritus. Bahan tambahan lain yaitu kertas saring, label, *plastic wrapping*, masker, sarung tangan dan *tissue*.

2.4 Alur Penelitian



Gambar 1. Alur Penelitian

2.5 Prosedur Pelaksanaan

Pelaksanaan kegiatan dalam penelitian ini terdiri atas beberapa tahapan yang dimulai dari sterilisasi alat, pembuatan media, persiapan eksplan, penanaman eksplan pada botol kultur yang berisi media dan pengamatan serta pengambilan data.

2.5.1 Sterilisasi Alat

Alat yang digunakan dalam kultur jaringan harus dalam keadaan bersih dan steril. Alat-alat yang digunakan dicuci bersih dan dikeringkan. Botol kultur dan aquades disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit. Cawan petri, pinset, gagang dan skalpel serta gunting disterilkan dalam oven selama 2 jam dengan suhu 150°C yang sebelumnya dibungkus kertas.

2.5.2 Pembuatan Media

Pembuatan media kultur jaringan dilakukan setelah larutan stok tersedia. Media yang dibuat yaitu media MS. Gelas piala berukuran 1000 ml disiapkan dan diisi aquades steril sebanyak 1/3 dari volume gelas piala, kemudian ditempatkan di

atas *hot plate stirrer*. Dimasukkan gula, stok makro, stok mikro, FeSO_4 , stok vitamin dan *Myo-Inositol* yang telah disiapkan dengan konsentrasinya masing-masing ke dalam gelas piala. Ditambahkan aquades steril ke dalam gelas piala hingga volume mencapai 600 ml. Diukur pH larutan antara 5,6- 5,8. Setelah pH larutan sesuai, dimasukan agar pematid 8 gr dan ditambahkan aquades hingga volume larutan 1000 ml. Selanjutnya dimasukan ZPT BAP sesuai dengan konsentrasi perlakuan yang digunakan kedalam larutan media. Konsentrasi BAP yang digunakan dalam penelitian ini disajikan dalam Tabel 1, Dididihkan larutan media dengan menggunakan *microwave*. Masukkan larutan media ke dalam botol kultur. Disterilkan botol-botol yang berisi media menggunakan *autoclaf* pada tekanan 1 atm dengan suhu 121°C selama 15 menit.

2.5.3 Sterilisasi Alat Penanaman

Sterilisasi alat penanaman dilakukan di dalam LAFK. Sebelum melakukan sterilisasi, LAFK disterilkan dengan menyemprotkan alkohol 70%. Alat-alat yang akan digunakan seperti botol kultur berisi media tanam, lampu bunsen, alat diseksi (pinset, gagang dan pisau skalpel, gunting) dalam botol kultur berisi alkohol 96%, tisu, *plastic wrapping*, kertas saring, cawan petri dan korek api kemudian masukkan ke dalam LAFK. Sebelum dimasukkan dalam LAFK alat-alat yang akan digunakan juga disemprot dengan alkohol 70%. Nyalakan UV (sinar ultraviolet) selama 60 menit dan kemudian *lamp* dan *fan* dinyalakan. Nyalakan lampu bunsen dengan korek api dan sterilkan alat diseksi dengan memanasakannya pada bunsen yang sebelumnya telah dicelupkan ke dalam alkohol 96%. Kemudian didiamkan beberapa saat sampai dingin dan siap digunakan.

2.5.4 Persiapan Eksplan

Eksplan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu pucuk *M. cajuputi*. Pucuk diperoleh dari hasil penanaman benih *M. cajuputi* secara *In Vitro* pada media MSO (*Murashige and Skoog* tanpa adanya penambahan ZPT) sehingga diperoleh eksplan pucuk yang steril. Sterilisasi benih *M. cajuputi* dilakukan dalam LAFK dengan merendam benih *M. cajuputi* bayclin 50% selama 2 menit. Merendam benih dengan alkohol 70% selama 20 detik. Setiap setelah direndam dengan bahan sterilan, benih dibilas menggunakan aquades hingga bersih. Mengeringkan benih dalam cawan petri berisi kertas saring. Benih *M. cajuputi* memiliki ukuran yang kecil sehingga penanaman langsung ditabur dalam botol berisi media. Penaburan dilakukan menggunakan spatula dan memastikan tidak adanya benih yang menumpuk pada permukaan media. Setelah itu botol kultur ditutup dengan rapat dan direkatkan dengan *plastic wrapping*.

2.5.5 Multiplikasi

Eksplan yang digunakan adalah planlet berupa pucuk hasil dari benih yang ditanam secara *In Vitro* berumur 1 bulan. Penanaman dilakukan di dalam LAFK yang berisi alat penanaman yang telah disterilkan sebelumnya. Memotong planlet *M.*

cajuputi dari dalam botol. Dimasukkan bahan eksplan yang telah dipotong ke dalam cawan petri yang berisi kertas saring dengan menggunakan pinset. Memotong planlet dengan membuang akar dan menyisakan pucuk $\pm 0,5$ cm. Menanam eksplan dalam botol kultur yang di dekatkan dengan bunsen menggunakan pinset. Botol kultur yang telah ditanami ditutup rapat dan direkatkan dengan *plastic wrap*. Melabeli botol kultur yang telah ditanami dengan mencantumkan tanggal penanaman, nama media dan jenis perlakuan yang diberikan.

2.6 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor yaitu Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) yang terdiri 5 unit perlakuan dengan 5 ulangan, sehingga diperoleh 25 unit perlakuan. Adapun perlakuan tersebut sebagai berikut:

Tabel 1. Komposisi Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) pada media yang digunakan untuk tahap multiplikasi *M. cajuputi* secara *In Vitro*

Kode Perlakuan	Komposisi Media Perlakuan
B1	MS + BAP 0 ppm
B2	MS + BAP 0,5 ppm
B3	MS + BAP 1 ppm
B4	MS + BAP 1,5 ppm
B5	MS + BAP 2 ppm

2.7 Variabel Pengamatan

Pengamatan dilakukan setelah penanaman selama 60 hari. Variabel yang diamati meliputi:

- Waktu muncul tunas (Hari Setelah Tanam/ HST), dihitung dari waktu penanaman hingga waktu munculnya tunas pertama.
- Waktu muncul daun (Hari Setelah Tanam/HST), dihitung dari waktu penanaman hingga waktu munculnya daun pertama.
- Jumlah tunas, menghitung jumlah tunas yang muncul setiap perlakuan. Jumlah tunas dihitung pada hari terakhir pengamatan.
- Jumlah daun (helai), menghitung jumlah daun yang muncul pada setiap perlakuan. Jumlah daun dihitung pada hari terakhir pengamatan.
- Tinggi tanaman (cm), diukur pada pangkal batang sampai titik tumbuh tanaman. Tinggi tanaman dihitung pada awal penanaman dan hari terakhir pengamatan.

2.8 Analisis Data

Data yang didapatkan dari hasil pengamatan akan dianalisis menggunakan Microsoft Excel, SPSS dan *MiniTab Statistical Software*. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan pola Rancangan Acak Lengkap (RAL). Data yang diperoleh dalam penelitian ini dianalisis menggunakan ANOVA. Jika terdapat perbedaan maka

akan dilanjutkan dengan uji beda nyata antar perlakuan menggunakan uji Tukey pada taraf 95 %.

Data hasil pengamatan kemudian dilakukan analisis korelasi untuk mengetahui hubungan setiap variabel pengamatan dan uji komponen utama (PCA). Analisis korelasi yang digunakan yaitu koefisien korelasi Pearson. Koefisien korelasi (r) digunakan untuk mengetahui kuat atau tidaknya hubungan antara variabel. Nilai koefisien korelasi berada antara 1 dan -1 ($-1 \leq r \leq 1$). Jika nilai koefisien korelasinya positif berarti kenaikan nilai variabel diikuti oleh kenaikan variabel lainnya begitu pula sebaliknya. Jika nilai korelasinya negatif berarti kenaikan nilai variabel diikuti penurunan nilai variabel lainnya (Roflin *et al.*, 2022).

Tabel 2. Interpretasi koefisien nilai r

Interval koefisien	Tingkat Hubungan
0,800-1,000	Sangat kuat
0,600-0,799	Kuat
0,400-0,599	Cukup kuat
0,200-0,399	Lemah
0,000-0,199	Sangat lemah