

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pembangunan Hutan Tanaman Industri untuk bahan baku Pulp (HTI-Pulp) telah dikembangkan pada berbagai wilayah di Indonesia, namun dari hasil evaluasi produktivitasnya belum memenuhi target pasokan bahan baku kayu untuk industri. Kebutuhan bahan baku kayu untuk industri perKayuan nasional adalah sekitar 39,2 juta m^3 , sedangkan produksi kayu dari hutan alam, hutan tanaman, hutan rakyat dan kayu perkebunan hanya mencapai 34,32 juta m^3 (Direktorat Bina Produksi Kehutanan, 2010). Rendahnya produksi kayu tersebut disebabkan pembangunan hutan tanaman industri belum maksimal, khususnya HTI-Pulp untuk penyediaan bahan baku kayu untuk pulp (Imam Muslimin et al., 2016)

Eucalyptus pellita merupakan salah satu jenis utama penghasil bahan baku kayu untuk industri pulp dan kertas di Indonesia. Dalam skala industri, kebutuhan kayu untuk industri pulp nasional mencapai lebih dari 30 juta ton per tahun, dimana sebagian besar pasokannya berasal dari HTI berbasis *Eucalyptus* dan *Acacia* (Hardiyanto et al., 2012). Produktivitas tegakan *E. pellita* pada HTI intensif dapat mencapai 20–35 ton kayu per hektar per tahun, sehingga dalam satu siklus rotasi mampu menghasilkan ratusan ribu hingga jutaan ton kayu per tahun pada skala perusahaan (Hutapea et al., 2023). Tingginya kebutuhan bahan baku kayu tersebut menuntut ketersediaan bibit unggul yang seragam, cepat tumbuh, dan berkualitas tinggi. Pengembangan teknik perbanyakan vegetatif melalui kultur jaringan menjadi sangat penting untuk mendukung keberlanjutan pasokan bahan baku kayu *E. pellita* dalam skala industri (George et al., 2008),

Perbanyakan dengan kultur jaringan dan stek pucuk merupakan salah satu metode utama untuk menghasilkan bibit kualitas unggul dalam jumlah besar dengan menggunakan material unggul. *Eucalyptus* dapat diperbanyak secara generatif dan vegetatif. Perbanyakan generatif melalui biji pada *E. pellita* memiliki beberapa kelemahan yang kurang untuk keperluan produksi bibit skala besar maupun pembangunan HTI. Bibit yang berasal dari biji cenderung menunjukkan tingkat variasi genetik dan fenotip yang tinggi, sehingga pertumbuhan tanaman menjadi tidak seragam, baik dari segi tinggi, diameter batang, maupun kualitas kayu. Kondisi ini membuat pengelolaan tegakan menjadi kurang efisien dan mempersulit prediksi volume hasil panen. Pasaribu et al., (2020) menjelaskan bahwa perbanyakan generatif pada *Eucalyptus* menghasilkan pertumbuhan yang lebih lambat, diameter lebih kecil, serta kualitas fiber yang lebih rendah dibanding perbanyakan vegetatif, sehingga nilai ekonominya menurun. Selain itu, generatif tidak dapat memastikan bahwa sifat unggul tanaman induk diwariskan secara konsisten, sehingga potensi munculnya tanaman dengan sifat inferior menjadi lebih besar. Imam Muslimin et al., (2016) juga menunjukkan bahwa bibit *E. pellita* hasil biji memiliki performa pertumbuhan lapangan yang lebih rendah dibanding bibit dari stek pucuk atau kultur jaringan. Variasi pertumbuhan yang terlalu tinggi ini dipandang sebagai kelemahan serius dalam HTI karena industri membutuhkan tegakan yang seragam, cepat tumbuh, dan berkualitas tinggi. Teknik generatif dianggap kurang efisien dan kurang mampu mendukung kebutuhan produktivitas *E. pellita* secara optimal.

Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa perbanyakan generatif pada *E. pellita* menghasilkan variasi pertumbuhan yang tinggi sehingga kurang efisien untuk penyediaan bibit dalam skala industri. (Pasaribu et al., 2020) menyatakan bahwa bibit Eucalyptus hasil biji menunjukkan pertumbuhan yang tidak seragam serta kualitas kayu yang bervariasi. Hal serupa dilaporkan oleh (Muslimin et al., 2016) yang menunjukkan bahwa pertumbuhan tanaman *E. pellita* dari biji lebih lambat dibandingkan dengan tanaman hasil perbanyakan vegetatif, sehingga kurang mendukung kebutuhan HTI yang menuntut keseragaman dan produktivitas tinggi.

Perbanyakan secara vegetatif mempunyai keunggulan karena mempunyai perakaran yang kuat (Sulichantini, 2016). Perbanyakan dengan kultur jaringan mempunyai keunggulan, antara lain, mempunyai sifat yang identik dengan induknya, dapat diperbanyak dalam jumlah yang besar dan tidak terlalu menggunakan tempat yang luas, mampu menghasilkan bibit dalam jumlah besar dengan waktu yang singkat, kesehatan dan mutu bibit lebih terjamin, kecepatan tumbuh bibit lebih cepat dibandingkan dengan perbanyakan konvensional (Gultom, 2023).

Kultur jaringan merupakan teknik perbanyakan vegetatif yang efektif karena mampu menghasilkan bibit dalam jumlah besar, seragam, dan bebas penyakit dalam waktu relatif singkat. Keberhasilan kultur jaringan sangat dipengaruhi oleh komposisi media dan penggunaan zat pengatur tumbuh. Keseimbangan antara sitokinin dan auksin dalam media kultur sangat menentukan arah diferensiasi sel, baik menuju pembentukan tunas, akar, maupun kalus (George et al., 2008),

Teknik kultur jaringan secara umum terdapat empat tahapan yang meliputi tahap induksi, multiplikasi, pembentukan akar dan aklimatisasi (Muhklisani et al., 2021). Metode kultur jaringan dengan pemberian ZPT penting untuk memacu pertumbuhan eksplan. Fungsi ZPT dalam kultur *in vitro* adalah untuk memacu pertumbuhan tunas dan pengakaran. ZPT yang paling sering digunakan adalah auksin dan sitokinin (Damanik et al., 2017). Komposisi media yang digunakan dan ZPT yang diberikan sangat berpengaruh pada keberhasilan metode kultur jaringan (Mahadi et al., 2024).

Penelitian yang telah dilakukan oleh (Eliyani, 2020) yaitu menggunakan ZPT BAP dengan konsentrasi $1,00 \text{ mg L}^{-1}$ BAP L-1, $2,00 \text{ mg BAPL}^{-1}$, $3,00 \text{ mg BAPL}^{-1}$, $4,00 \text{ mg BAP L}^{-1}$ mampu menginduksi tunas *E. pellita*. Penelitian ini menunjukkan bahwa penggunaan BAP dengan konsentrasi 4.00 memberikan hasil terbaik terhadap jumlah tunas, panjang tunas, dan jumlah daun *E. pellita*. Berdasarkan penelitian ini BAP memiliki pengaruh terhadap pertumbuhan tunas *E. pellita*. Penelitian yang dilakukan oleh Eliyani, 2020 dapat diteliti lebih lanjut mengenai kombinasi ZPT BAP dan NAA pada multiplikasi *E. pellita*.

Multiplikasi merupakan salah satu tahapan dalam kultur *in vitro* dimana terjadi diferensiasi sel menjadi tunas. Multiplikasi tunas juga dapat diartikan sebagai penggandaan tunas dari hasil inisiasi mata tunas maupun kalus (Denis, 2020). Penelitian mengenai penggunaan ZPT pada *E. pellita* telah banyak dilakukan, namun sebagian besar masih berfokus pada penggunaan sitokinin tunggal, khususnya BAP. Penelitian Eliyani (2020) melaporkan bahwa BAP 4,0 ppm memberikan hasil terbaik terhadap induksi tunas *E. pellita*, namun belum mengkaji secara spesifik pengaruh kombinasi BAP dan NAA pada tahap multiplikasi. Sementara itu, penelitian Leksono (2018) menunjukkan bahwa kombinasi BAP dan NAA dapat meningkatkan pertumbuhan tunas pada beberapa

jenis tanaman kehutanan. Penelitian yang secara khusus mengkaji kombinasi BAP dan NAA pada tahap multiplikasi *E. pellita* masih terbatas. Padahal, keseimbangan antara sitokinin dan auksin sangat menentukan keberhasilan multiplikasi tunas secara *in vitro*. Oleh karena itu, diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai kombinasi konsentrasi BAP dan NAA yang optimal untuk mendukung tahap multiplikasi *E. pellita* secara *in vitro*. Multiplikasi dilakukan untuk mendukung keberhasilan kultur jaringan jenis *E. pellita* sehingga dapat dijadikan bahan informasi untuk memperbanyak tanaman *E. pellita* melalui teknik kultur jaringan.

1.2 Landasan Teori

Tanaman Ekaliptus tumbuh dengan baik pada suhu rata-rata per tahun 16 hingga 26° Celcius danm sebaran alami Ekaliptus berada di sebelah Timur garis Wallace, mulai dari 7° LU sampai 43° LS meliputi Australia, New Britania, Papua dan Tazmania (Siahaan 2010, rauf 2009, Latifah 2004). Beberapa spesies ditemukan di Kepulauan Indonesia yaitu di Irian Jaya (papua), Sulawesi, Nusa Tenggara Timur dan Timor –Timur (Hamdan, 2016). *E. pellita* merupakan tanaman yang tumbuh lebih cepat dan memiliki keunggulan dibandingkan dengan jenis *eucalyptus* yang lain. Sebagai salah satu produk hasil hutan bukan kayu (HHBK) *E. pellita* hanya dimanfaatkan kayunya sebagai bahan baku pulp sehingga menghasilkan limbah dan kulit, memiliki daun yang sangat potensial sebagai penghasil minyak atsiri yang memiliki nilai jual tinggi (Saputra, 2023).

Penelitian Eliyani, 2020 penggunaan Zat Pengatur Tumbuh BAP dengan konsentrasi 4,00 mg dalam media multiplikasi memberikan hasil terbaik terhadap jumlah tunas, panjang tunas, dan jumlah daun *E. pellita*. Kultur jaringan juga dilakukan oleh Leksono, 2018 menunjukkan bahwa kombinasi media MS+BAP 3 mg. L⁻¹ + NAA 0,01 mg L⁻¹+ gula pasir 30 g L⁻¹ + agar 7 g. L⁻¹ memberikan respon yang tinggi mampu meningkatkan keberhasilan dan mengoptimalkan pertumbuhan tunas pada tahap multiplikasi, hal ini disebabkan karena eksplan yang masih muda dan juvenil mengandung ZPT *endogen* pada bagian tunasnya sehingga dengan pemberian ZPT *eksogen* pada konsentrasi yang rendah sudah mampu tumbuh dan berkembang. Media MS banyak digunakan dalam kultur jaringan, karena kandungan nitrat, kalium, dan amoniumnya tinggi, mengandung jumlah hara an-organik yang cukup untuk memenuhi kebutuhan berbagai jenis sel tumbuhan dalam kultur (Herawan et al., 2015).

Subkultur merupakan salah satu tahap dalam memperbanyak tanaman melalui kultur jaringan. Pada dasarnya subkultur adalah memotong, membelah dan menanam kembali eksplan yang telah tumbuh sehingga jumlah tanaman akan bertambah banyak (Jakoni & Elfiani, 2020). Komposisi media tanam memiliki dampak yang signifikan terhadap multiplikasi atau memperbanyak *in vitro*, dan penambahan dari ZPT pada media memiliki peranan signifikan untuk perkembangan dan pertumbuhan tanaman. Media tersebut mengandung berbagai ZPT, antara lain golongan auksin dan sitokinin baik sintetik maupun alami, vitamin, sumber karbon, serta unsur hara makro dan mikro (Mubarak & Ratnasari, 2024). Zat pengatur tumbuh memiliki peran yang sangat penting bagi pertumbuhan dan perkembangan tanaman(Ernita et al., 2023).

Kombinasi zat pengatur tumbuh yang digunakan atau ditambahkan ke dalam media merupakan faktor utama penentu keberhasilan kultur *in vitro*, golongan ZPT yang sangat penting adalah auksin dan sitokinin, kombinasi auksin dan sitokinin dapat

memperbaiki efisiensi regenerasi eksplan, tergantung konsentrasi yang ditambahkan (Lutfiani et al., 2022). Sitokinin merangsang pembelahan sel tanaman dan berinteraksi dengan auksin dalam merangsang arah diferensiasi sel. Apabila perbandingan konsentrasi sitokinin lebih besar dari auksin, maka pertumbuhan tunas, daun, dan akar akan terstimulasi pada pertumbuhan akar. Perbandingan sitokinin dan auksin yang berimbang menghasilkan pertumbuhan tunas, daun dan akar yang berimbang. Kombinasi ZPT yang tepat merupakan faktor yang mempengaruhi keberhasilan kultur *in vitro*. Konsentrasi antar ZPT yang diberikan dalam media dan yang diperoleh sel secara *endogen* akan menentukan arah perkembangan suatu kultur. Pemberian sitokinin dan auksin dalam bentuk BAP dan NAA kedalam media menyebabkan diferensiasi sel kearah pembentukan organ dan jaringan menjadi lebih terarah (Kholidatul, 2018)

Interaksi antara sitokinin dan auksin merupakan faktor utama dalam mengatur proses organogenesis tanaman secara *in vitro*. Sitokinin berperan dalam merangsang pembelahan sel dan pembentukan tunas, sedangkan auksin berperan dalam pemanjangan sel dan pembentukan akar. Rasio sitokinin yang lebih tinggi dibandingkan auksin akan mengarahkan diferensiasi sel ke arah pembentukan tunas, sedangkan dominasi auksin akan mengarah pada pembentukan akar. Oleh karena itu, kombinasi BAP dan NAA pada konsentrasi tertentu diperlukan untuk memperoleh pertumbuhan planlet yang optimal (Taiz et al., 2015),

BAP (*Benzyl Amino Purine*) merupakan sitokinin sintetik yang banyak digunakan dalam perbanyakan tanaman secara *in vitro*. BAP mempunyai efektivitas yang cukup tinggi untuk perbanyakan tunas (Arafah et al., 2021) BAP berfungsi sebagai perangsang pertumbuhan tunas, berpengaruh terhadap metabolisme sel, dan berfungsi sebagai pendorong proses fisiologis yang bergantung pada konsentrasi yang digunakan (Yulia et al., 2020). BAP merupakan salah satu sitokinin turunan adenin yang aktif dalam memacu pembentukan tunas (Sutriana et al., 2014) dapat bekerja efektif dalam memacu pembentukan tunas, pembelahan sel, dan perbanyakan tunas pada tanaman tertentu (Azis et al., 2017). Hormon auksin berperan dalam mengatur arah pertumbuhan dan pemanjangan sel. NAA merupakan salah satu hormon dari golongan auksin yang dapat merangsang pembelahan dan perbesaran sel yang menyebabkan pertumbuhan pucuk-pucuk baru dan menginduksi akar (Sakina et al., 2019)

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan kurang lebih selama 4 bulan dimulai pada bulan April sampai Agustus tahun 2025, dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Balai Pembenihan Tanaman Hutan (BPTH) Wilayah II Makassar, Sulawesi Selatan.

2.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan adalah *laminar air flow cabinet* (LAFC), *autoclave*, oven, *hot plate & magnetic stirrer*, alat kultur, alat diseksi (pinset, gunting, gagang, pisau *scalpel*), timbangan analitik, pH meter, alat gelas standar (gelas piala, gelas ukur dan botol kultur), mikropipet, lampu bunsen, korek api, cawan petri, wadah, *log book*, *microwave*, *hand spray*, ATK (Alat Tulis Kerja) dan alat dokumentasi.

2.3 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu eksplan berupa pucuk planlet hasil inisiasi benih *eucalyptus pellita*. Planlet *eucalyptus pellita* yang digunakan berumur 1 bulan di Laboratorium Kultur Jaringan Balai Perbenihan Tanaman Hutan Wilayah II. Benih yang digunakan berasal dari Kampung Cisalak, Desa Depok, Kecamatan Pakenjeng Kabupaten Garut Jawa Barat. Media dasar yang digunakan adalah media *Murashige and Skoog* (MS), komposisi media MS dapat dilihat pada Lampiran 1, yang terdiri dari larutan stok makro, stok mikro, stok Fe, stok vitamin, Myo-Inisitol, glukosa yang dipadatkan dengan agar-agar pematik. ZPT yang digunakan yaitu *Benzyl Amino Purine* (BAP) dan *Naphtaleine Acetic Acid* (NAA). Bahan sterilisasi yang digunakan adalah aquades, *bayclin*, alkohol dan spiritus. Bahan tambahan lainnya yaitu kertas saring, label, *plastic wrapping*, masker sarung tangan dan *tissue*.

2.4 Prosedur Pelaksanaan

Kegiatan pelaksanaan dalam penelitian ini terdapat beberapa tahap yang dimulai dengan sterilisasi alat dan bahan, pembuatan media, sterilisasi sebelum penanaman, penanaman eksplan dalam botol kultur yang telah diisi dengan media, perbanyakan tanaman (multiplikasi), perakaran serta pengamatan dan pengumpulan data.

2.4.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Semua alat dan bahan yang digunakan dalam proses kultur jaringan harus dalam keadaan steril dan bersih oleh karena itu perlu dilakukan sterilisasi. Alat-alat yang digunakan dicuci bersih lalu dikeringkan. Mensterilkan alat dan bahan seperti botol kultur dan aquades menggunakan *autoclave* pada suhu 121 °C selama 20 menit.

2.4.2 Pembuatan Media

Pembuatan media kultur jaringan dilakukan setelah larutan stok siap. Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah media *Murashige and Skoog* (MS) dapat dilihat pada Lampiran 8. Dalam pembuatan media *Murashige and Skoog* (MS) memiliki langkah-langkah sebagai berikut:

1. Menyiapkan gelas piala 1000 ml dan diisi aquades steril sebanyak 1/3 dari volume gelas piala, kemudian diletakkan di atas *hot plate stirrer*.
2. Menambahkan gula, larutan stok makro, stok mikro, FeSO_4 , stok vitamin, dan *myo-Inositol* ke dalam gelas piala.
3. Mengaduk larutan media menggunakan *magnetic stirrer* di atas *hot plate stirrer* hingga homogen.
4. Menambahkan aquades steril ke dalam larutan hingga volume mencapai 1000 ml.
5. Mengukur pH larutan dengan menggunakan pH meter dan menyesuaikan pH larutan, selanjutnya menambah agar pematik, kemudian dimasukkan ke dalam larutan dan diaduk sampai merata.
6. Menambahkan aquades steril hingga volume larutan menjadi 1000 ml.
7. Larutan media ditambahkan zat pengatur tumbuh (ZPT) berupa *Benzyl Amino Purin* (BAP) *Napthaleneacetic acid* (NAA) sesuai konsentrasi yang tercantum pada **Tabel 1**
8. Larutan media dididihkan dengan menggunakan *microwave*.
9. Larutan media kemudian dimasukkan ke dalam botol kultur secara merata menggunakan gelas ukur 250 ml.
10. Menuliskan label setiap botol yang sudah diisi media sesuai dengan perlakuan yang diberikan.
11. Mensterilkan botol yang berisi media menggunakan *autoclaf* pada tekanan 1 atm dengan suhu 121°C selama 15 menit.

2.4.3 Sterilasi Alat Sebelum Penanaman

Kegiatan sterilisasi untuk penanaman dimulai dengan mensterilkan *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC) menggunakan semprotan alkohol 70%. Alat-alat yang digunakan, termasuk botol kultur yang berisikan media, lampu bunsen, plastic wrapping, cawan petri, kertas saring, tabung reaksi berisikan alkohol, korek api serta alat diseksi (pinset, sptula, pisau, scalpel, dan gunting), sebelum dimasukkan kedalam LAFC disemprotkan terlebih dahulu alkohol 70%. Sinar ultraviolet dan LAFC dinyalakan selama 20 menit. Kemudian mematikan UV dan lampu serta kipas pada LAFC dinyalakan, lalu memasukkan bahan eksplan yang akan ditanam. Lampu bunsen dinyalakan menggunakan korek api, alat diseksi disterilkan dengan cara dibakar setelah sebelumnya dicelupkan kedalam alkohol, setelah itu didiamkan beberapa saat.

2.4.4 Persiapan Eksplan

Eksplan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pucuk *Eucalyptus pellita* yang diperoleh dari hasil penanaman benih *E. Pellita* secara *in vitro* pada media MS0 tanpa adanya penambahan ZPT sehingga diperoleh eksplan pucuk yang steril. Sterilisasi benih *E. Pellita* dilakukan dalam LAFC dengan merendam benih *E. Pellita* bayclin 50% selama 2 menit, merendam benih dengan alkohol 70% selama 20 detik. Setiap setelah direndam

dengan bahan steril, benih dibilas menggunakan aquades hingga bersih. Kemudian benih dikeringkan dalam cawan petri yang berisi kertas saring. Benih *E. Pellita* memiliki ukuran yang kecil sehingga dilakukan penanaman langsung ditabur dalam botol berisi media. Penaburan dilakukan menggunakan spatula dan memastikan tidak ada benih yang menumpuk pada permukaan media dapat dilihat pada Lampiran 8. Setelah itu botol kultur ditutup dan direkatkan menggunakan *plastic wrapping*.

2.4.5 Multiplikasi

Eksplan yang digunakan adalah planlet berupa pucuk hasil dari benih yang ditanam secara *in vitro*. Penanaman dilakukan di dalam LAFC yang berisi alat penanaman yang telah disterilkan sebelumnya. Planlet *E. Pellita* di potong dari dalam botol kemudian dimasukkan bahan eksplan yang telah dipotong ke dalam cawan petri yang berisi kertas saring menggunakan pinset. Memotong planlet dengan membuang akar dan menyisakan pucuk $\pm 0,5$ cm. Menanam eksplan ke dalam botol kultur 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.

2.5 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap dengan satu faktor yaitu konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) yang terdiri 5 unit perlakuan dengan 5 kali ulangan, sehingga diperoleh 25 unit perlakuan.

Tabel 1. Komposisi Zat Pengatur Tumbu (ZPT) pada media yang digunakan untuk tahap multiplikasi *E. Pellita* secara *in vitro*

Kode Perlakuan	Komposisi Media Perlakuan
E1	MS Tanpa ZPT
E2	MS + BAP 1,0 ppm + NAA 0,04 ppm
E3	MS + BAP 2,0 ppm + NAA 0,03 ppm
E4	MS + BAP 3,0 ppm + NAA 0,02 ppm
E5	MS + BAP 4,0 ppm + NAA 0,01 ppm

2.5 Variabel Pengamatan

Pengamatan dilakukan selama 45 hari. Variabel yang diamati dalam penelitian ini meliputi :

- Waktu muncul tunas (Hari Setelah Tanam/HST), dihitung dari waktu penanaman hingga munculnya tunas pertama.
- Waktu muncul daun (Hari Setelah Tanam/HST), dihitung dari waktu penanaman hingga waktu munculnya daun.
- Jumlah tunas, menghitung jumlah tunas yang muncul setiap perlakuan. Jumlah tunas dihitung pada hari terakhir pengamatan.

- d. Jumlah daun (helai), menghitung jumlah daun yang muncul pada setiap perlakuan. Jumlah daun dihitung pada hari terakhir pengamatan.
- e. Tinggi tanaman (cm), diukur pada pangkal batang sampai titik tumbuh tanaman. Tinggi tanaman dihitung pada awal penanaman dan hari terakhir pengamatan.

2.7 Analisis Data

Analisis data yang digunakan menggunakan *Microsoft Excel* dan program SPSS dalam analisis ragam (ANOVA/*Analysis of variance*), jika hasilnya signifikan maka dilanjutkan dengan uji Duncan untuk mengetahui perbedaan signifikan antara perlakuan.

