

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Acacia crassicarpa merupakan salah satu jenis tanaman yang tergolong dalam spesies cepat tumbuh (*fast growing species*) yang banyak digunakan sebagai sumber kayu di Asia Tenggara (Harwood & Nambiar, 2014). *A. crassicarpa* merupakan tanaman yang toleran sehingga tanaman ini dapat tumbuh dengan baik pada lahan masam dengan pH (3,5-6,0), lahan-lahan yang telah terdegradasi, lahan yang miskin unsur hara (*marginal*), kondisi lahan yang berbatu, tanah yang mengalami erosi, lahan yang kandungan bahan organik tinggi, serta tanah basah (rawa atau terendam berkala) (Thomson, L.A, 1994). *A. crassicarpa* memiliki nilai yang sangat potensial untuk dikembangkan di hutan tanaman industri (HTI) yang diperuntukkan sebagai *pulp*, kertas dan kraft (Irianto et al., 2006).

Dengan terus dilakukannya perkembangan dalam bidang industri kertas yang terdapat di Indonesia, maka permintaan akan bahan baku terus mengalami peningkatan sehingga dilakukan berbagai upaya dalam pemenuhan permintaan tanaman bahan baku pulp dan kertas salah satunya *A. crassicarpa* dengan cara mengetahui teknik perbanyakan yang sesuai sehingga mendapatkan tanaman yang unggul (Sunarti, 2018). Perbanyakan tanaman bisa dilakukan secara vegetatif maupun generatif. Perbanyakan yang paling banyak digunakan sekarang ini menggunakan teknik perbanyakan secara kultur jaringan (Kurnianingsih et al., 2020).

Kultur jaringan merupakan teknik memperbanyak tanaman dengan cara mengisolasi bagian tanaman yang akan ditumbuhkan seperti daun, mata tunas, sel, protoplas, benih dengan menumbuhkan bagian-bagian tanaman dalam media buatan yang kaya nutrisi dan ZPT (zat pengatur tumbuh) (Kurnianingsih et al., 2020). ZPT atau hormon pengatur tumbuh berperan penting dalam mengontrol proses biologis dalam tanaman seperti mengatur kecepatan pertumbuhan jaringan dan mengintegrasikannya menjadi organ baru yang berperan penting dalam kultur *in vitro* (Leovici et al., 2014) dan (Rustam et al., 2020).

Golongan ZPT yang berupa auksin dan sitokinin yang terdapat dalam media akan mempengaruhi respon eksplan yang dikulturkan (Nuryadin et al., 2017). Sitokinin memiliki fungsi utama untuk memacu pembelahan sel dan pembentukan organ atau dapat meregulasi pembelahan sel pada tunas dan akar, selain itu sitokinin juga digunakan untuk memacu faktor multiplikasi tunas yang tinggi. Jenis sitokinin yang digunakan dalam proses penanaman adalah *Benzyl Amino Purine* (BAP) sedangkan Auksin merupakan sekelompok senyawa yang fungsinya untuk merangsang pemanjangan sel-sel pucuk. Pada umumnya auksin akan berfungsi meningkatkan pemanjangan serta diferensiasi sel, pembelahan sel dan pembentukan akar adventif. ZPT dari golongan auksin yang digunakan adalah *Napthaleneacetic acid* (NAA).

Beberapa penelitian mengenai kultur jaringan akasia menggunakan golongan ZPT, Akeng et al. (2014) mengemukakan bahwa media yang ditambahkan 5 mg/l NAA menghasilkan rata-rata tunas tertinggi sebanyak 30% dan media yang ditambahkan 2

mg/l 2,4-D menghasilkan rata-rata akar terpanjang untuk eksplan daun dan ruas batang nodal (12,0 mm) menggunakan tanaman *A. crassicaarpa*. Kader et al. (2022) pada tanaman *A. auriculiformis* yang ditambahkan 0,5 mg/l NAA menghasilkan akar/pucuk dengan panjang akar terpanjang sebesar 88,89%. Hu Feng et al. (2015) Hasil penelitian menunjukkan bahwa media perakaran yang optimal untuk *A. mangium* dan *A. auriculiformis* adalah 1/2MS + IBA 0,5 mg/l + NAA 0,5 mg/l + sukrosa 3% dan 1/2MS + IBA 0,5 mg/l + NAA 0,25 mg/l + sukrosa 3%. Laju perakaran kedua spesies tersebut dapat mencapai di atas 93%. Yang et al. (2006) tanaman *A. crassicaarpa* yang ditanam menggunakan media yang mengandung kombinasi 0,5 mg/l TDZ dan 0,5 mg/l NAA menghasilkan tunas tertinggi sebanyak (56%).

A. crassicaarpa merupakan salah satu tanaman tropika yang biasanya memiliki kandungan senyawa fenol tinggi yang teroksidasi ketika sel dilukai atau terjadi *senses* yang mengakibatkan jaringan tanaman yang diisolasi menjadi coklat atau kehitaman yang biasa disebut *browning* akan gagal tumbuh. Pencoklatan jaringan terjadi karena aktivitas enzim oksidase yang mengandung tembaga seperti *polifenol oksidase* dan *tirosinase* dari dalam eksplan yang terbentuk pada saat eksplan dilukai, sehingga kematian akibat pencoklatan lebih sulit diatasi daripada kontaminasi (Fauzan et al., 2021). Dengan adanya *browning* yang terjadi pada tanaman dilakukan berbagai upaya untuk mengatasi *browning* dengan penambahan antioksidan dan adsorben seperti arang aktif dan Polivinil Piroolidon (PVP) (Suwal et al., 2020).

Berbagai jenis antioksidan dan adsorben yang telah digunakan dalam mengatasi *browning* pada kultur *in vitro* diantaranya adalah asam askorbat, ekstrak tomat dan arang aktif. Asam askorbat dapat mengurangi produksi o-quinon (indikator terjadinya pencoklatan). O-quinon merupakan hasil dari oksidasi polifenol yang dikatalisis oleh PPO. Potensi asam askorbat sebagai anti *browning* bermacam-macam tergantung fungsi dan konsentrasi (Javdani et al., 2013). Penambahan asam askorbat (100 mg/liter) ke dalam media perkembangbiakan tunas menghambat terjadinya pencoklatan pada media (Baskar & Subhash, 1996).

ZPT merupakan salah satu komponen penting dalam media bagi pertumbuhan yang dapat merangsang sel dan diferensiasi. (Leovici et al., 2014). Sel meristematik yang telah mengalami diferensiasi disebut sel serat. Pertumbuhan dan perkembangan serat merupakan hasil dari proses pertambahan jumlah dan ukuran sel. Pertambahan jumlah sel suatu organisme terjadi karena proses pembelahan sedangkan proses penambahan ukuran sel terjadi karena proses pembentangan sel (Astuti & Darmanti, 2010). Hal ini memberikan gambaran tentang adanya hubungan antara pemberian ZPT dengan kerapatan sel penyusun kayu yang tumbuh. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengamati dan menganalisis konsentrasi yang baik digunakan untuk multiplikasi tanaman *A. Crassicaarpa* menggunakan golongan sitokinin dan auksin berupa NAA, BAP serta *ascorbic acid* serta pengaruhnya terhadap kerapatan yang dihasilkan.

1.2 Landasan Teori

Acacia crassicarpa merupakan spesies tanaman kehutanan yang semakin banyak dibudidayakan dalam industri perkebunan di berbagai wilayah Asia Tenggara, tanaman ini banyak diperuntukkan khusus untuk produksi pulp (Beilharz et al., 2004). Produksi kayu bulat di Indonesia pada tahun 2016–2019 meningkat rata-rata 16,12% dibandingkan tahun sebelumnya. Peningkatan produksi kayu bulat tersebut terus berlanjut hingga tahun 2019 yang mencapai 41.457,58 m³. Tanaman yang paling banyak ditanam adalah *Acacia* sp. (77,36%), diikuti oleh *Eucalyptus* sp. (21,35%), dan *Shorea* spp. (0,64%) (BPS., 2019). Peningkatan produksi kayu bulat tersebut ditujukan untuk memenuhi berbagai kebutuhan bahan baku *pulp* dan kertas. Kendala utama dalam memenuhi permintaan kayu bulat adalah terbatasnya stok kayu yang diproduksi di dalam hutan. Oleh karena itu, *A. crassicarpa* gencar ditanam oleh perusahaan perkebunan (Zul et al., 2022). Banyaknya permintaan pada tanaman *A. crassicarpa* tidak bisa dipenuhi dengan perbanyakan konvensional maka dilakukan banyak usaha untuk menanggulangi rendahnya produktivitas tanaman adalah dengan penggunaan bibit unggul untuk budidaya tanaman. Bibit unggul dapat dihasilkan dari perbanyakan secara vegetatif. Perbanyakan tanaman secara vegetatif yang banyak digunakan saat ini adalah kultur jaringan (Saefas et al., 2017).

Teknik kultur jaringan merupakan teknik perbanyakan secara *in vitro* dengan cara menumbuhkan dan memperbanyak sel, jaringan dan organ tanaman dalam media padat atau cair di bawah kondisi aseptik dan terkendali. Tanaman kultur jaringan mempunyai keunggulan berupa pertumbuhan yang cepat, juga tumbuh dengan seragam dan lebih tahan terhadap serangan hama dan penyakit sehingga bibit yang dihasilkan akan lebih bisa terjamin pertumbuhan dan perkembangannya ketika sudah dibudidayakan di lapangan. Kondisi lingkungan pada saat perbanyakan melalui kultur jaringan akan menjadi sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksplan. (Suminar et al., 2025). Penggunaan teknik ini memastikan produksi bibit bermutu yang berkelanjutan terlepas dari pengaruh musim. Dengan menerapkan teknik kultur jaringan tanaman untuk produksi bibit, industri Indonesia dapat menjadi lebih efisien dan berkelanjutan (Zulkarnain, 2024). Keberhasilan perbanyakan tanaman secara *in vitro* sangat dipengaruhi oleh jenis eksplan, jenis zat pengatur tumbuh (ZPT), kombinasi dan konsentrasi ZPT yang ditambahkan dalam media kultur (Nidaulhasanah et al., 2025).

Media kultur jaringan tanaman menyediakan tidak hanya unsur hara makro dan mikro tetapi juga karbohidrat yang umumnya berupa gula untuk menggantikan karbon yang biasanya didapat dari atmosfer melalui fotosintesis. Hasil yang lebih baik akan dapat kita peroleh bila ke dalam media tersebut ditambahkan vitamin, amino acid dan ZPT. Perbandingan ZPT antara golongan sitokinin dan golongan auksin merupakan kunci keberhasilan dalam kultur jaringan (Ferry et al., 2008). Zat pengatur tumbuh dari golongan auksin yang sering digunakan adalah NAA (*Naphtalane Acetid Acid*) dengan kadar 0,1-50 ppm. Sedangkan zat pengatur tumbuh dari golongan sitokinin yang paling sering digunakan adalah BAP (*Benzyl Amino Purin*) dengan kisaran konsentrasi 0,01-10 ppm (Constabel, 1991). Kombinasi antara gabungan beberapa ZPT tidak selalu sesuai dengan yang diharapkan. Penggunaan ZPT pada tanaman berbeda-beda

tergantung jenis tanaman, media yang digunakan, tujuan yang akan dicapai dan tahap pertumbuhan tanaman. Pengembangan kultur in vitro tanaman berkayu pada saat ini masih menemui banyak kendala salah satunya adalah *browning*. *Browning* umumnya disebabkan oleh senyawa fenolik yang biasanya muncul dan terakumulasi ketika eksplan dilukai, yang biasanya disebabkan oleh aktivasi dari enzim *polyphenol oxidase*. Upaya untuk mengatasi *browning* yang sering terjadi pada kultur jaringan tanaman berkayu dapat dilakukan antara lain dengan penambahan senyawa antioksidan seperti asam askorbat yang bisa mengatasi masalah *browning* pada tanaman (Djarot & Lestari, 2024).

Pertumbuhan tanaman berkayu yang lebih cepat akan mengakibatkan proporsi kayu muda (*juvenile wood*) lebih besar, dengan berat jenis (*specific gravity*) dan kerapatan kayu (*wood density*) yang rendah, sehingga kualitas kayu yang dihasilkan juga lebih rendah. Pertumbuhan tanaman secara cepat menghasilkan dinding sel yang lebih tipis dan lumen yang lebih besar, sehingga densitas kayu menurun diakibatkan tanaman yang berfokus untuk menghasilkan tumbuh yang terus tinggi sehingga tidak maksimal dalam pertumbuhan sel (Putro et al., 2020). Kerapatan sel penyusun kayu merupakan salah satu indikator yang mempengaruhi kualitas kayu. Kayu yang mempunyai kerapatan sel yang lebih tinggi cenderung memiliki kekuatan dan ketahanan lebih baik (Lempang & Asdar, 2012). Tanaman yang biasanya memiliki kualitas kerapatan sel yang baik merupakan tanaman yang memiliki laju tumbuh yang lebih lambat dan tanaman yang tergolong cepat tumbuh memiliki porositas yang lebih tinggi. Hal tersebut berkaitan dengan sifat mekanisnya, yaitu porositas yang tinggi cenderung mengakibatkan kekuatan yang rendah (Rizanti et al., 2018 dalam Anggirani & Sutiawan, 2023). Dalam menghadapi masalah tersebut dapat dilakukan beberapa metode salah satunya menggunakan metode kultur jaringan tanaman.

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan April 2025 sampai Agustus 2025 yang 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 tanaman yang digunakan pada penelitian ini berupa pucuk planlet hasil inisiasi benih *A. crassicaarpa*. Planlet *A. crassicaarpa* yang digunakan berumur 1 bulan yang terdapat di Laboratorium Kultur Jaringan Balai Perbenihan Tanaman Hutan (BPTH) Wilayah II Makassar. Benih tanaman *A. crassicaarpa* diambil dari koleksi benih BPTH Wilayah II Makassar yang berasal dari Kampung Poo, Kecamatan Jagebob, Kabupaten Merauke. Provinsi Papua Selatan. Eksplan ditanaman menggunakan media dasar *Murashige and Skoog* (MS) yang mengandung larutan mikro, stok makro, stok Fe, stok vitamin, *myo-inositol*, glukosa yang dipadatkan dengan agar-agar pematik. Bahan lain yang ditambahkan pada media dasar berupa zat pengatur tumbuh (ZPT) berupa *Benzyl Amino Purine* (BAP), *Napthaleneacetic acid* (NAA), dan *ascorbic acid*. Bahan sterilisasi yang digunakan yaitu alkohol 70%, spiritus, air, aquades steril, dan *sodium hypochlorite* 50%. Bahan tambahan yang digunakan adalah *tissue*, sarung tangan, masker, kertas saring, label dan *plastic wrapping*.

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) dengan komposisi yang dapat dilihat pada **Lampiran 1**. Dalam pembuatan media 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, FeSO₄, 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 pematat, kemudian dimasukkan ke dalam larutan dan diaduk sampai merata.
6. Menambahkan aquades steril hingga volume larutan menjadi 1000 ml.
7. Larutan media di tambahkan zat pengatur tumbuh (ZPT) berupa *Benzyl Amino Purin* (BAP) *Napthaleneacetic acid* (NAA), serta *ascorbic acid* sesuai konsentrasi yang tercantum pada **Tabel 1**
8. Larutan media dididihkan dengan menggunakan *microwave*.
9. Larutan media kemudian di masukkan ke dalam botol kultur secara merata menggunakan gelas ukur 250 ml.
10. Melabeli 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.

Tabel 1. Rancangan Perlakuan dengan berbagai Konsentrasi ZPT

Perlakuan	Jenis Media
AC ₀ (MS)	Tanpa perlakuan/kontrol (MS0)
AC ₁	MS + 1 ppm BAP
AC ₂	MS + 5 ppm BAP
AC ₃	MS + 5 ppm NAA
AC ₄	MS + 5 ppm BAP + 100 ppm <i>ascorbic acid</i>
AC ₅	MS + 5 ppm NAA + 100 ppm <i>ascorbic acid</i>
AC ₆	MS + 1 ppm BAP + 100 ppm <i>ascorbic acid</i>

2.4.3 Sterilisasi 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 60 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

Sumber eksplan yang digunakan adalah benih akasia krasikarpa berasal dari induk tanaman yang sehat, tidak terkontaminasi atau terinfeksi hama dan penyakit tanaman. Sterilisasi yang dilakukan berada di luar laminar dan di dalam laminar. Pelaksanaan diluar laminar dengan merendam eksplan dalam air hangat dengan suhu 65°C selama 12 jam dan proses pada dalam laminar dengan merendam benih pada alkohol 70% selama 20 detik, selanjutnya membilas kembali dengan aquades steril sebanyak 3x, lalu mensterilkan dengan *sodium hypochlorite* 50% selama 2 menit, membilas dengan aquades steril sebanyak 3x, kemudian dikeringkan pada kertas saring (BPTH Wilayah II).

2.4.5 Penanaman Eksplan

Penanaman dilakukan di dalam LAFC dengan eksplan tanaman dimasukkan kedalam cawan petri yang berisi kertas saring menggunakan pinset, dan benih ditanam dalam media MSO. Menanam eksplan biji dalam botol kultur yang didekatkan dengan lampu menggunakan pinset. Menutup rapat botol kultur dan merekatkannya dengan *plastic wrapping* yang telah ditanami eksplan. Kemudian memberikan label pada botol-botol yang telah ditanami dengan mencantumkan tanggal penanaman, nama media serta jenis perlakuan yang telah diberikan. Setelah itu menyusun botol kultur ke rak kultur yang dalam gelap atau tanpa cahaya.

2.4.6 Pengukuran Kerapatan Sel Penyusun Kayu

Pengukuran kerapatan sel penyusun kayu dilakukan terhadap sampel tanaman hasil kultur jaringan. Semua sampel tanaman dibiarkan pada suhu ruang hingga beratnya konstan sebelum pengukuran kerapatan berdasarkan perlakuan yang diberikan. Berat sampel ditimbang menggunakan neraca analitik, sedangkan volumenya ditentukan menggunakan metode perendaman (*water displacement volume method*). Kerapatan sel penyusun kayu dihitung dengan membandingkan nilai berat dan volume bagian batang tanaman yang telah diukur dengan cara *duplo test*.

2.5 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap dengan satu faktor yaitu konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) yang terdiri 7 unit perlakuan diluar perlakuan kontrol dengan 3 ulangan sehingga diperoleh 21 unit perlakuan.

2.6 Variabel Pengamatan

Pengamatan dilakukan selama 60 hari. Variabel yang diamati dalam penelitian ini meliputi :

- a. Jumlah daun (helai), menghitung jumlah daun yang muncul pada setiap perlakuan. Jumlah daun dihitung pada hari terakhir pengamatan.
- b. Tinggi tanaman (cm), diukur pada pangkal batang sampai titik tumbuh tanaman. Tinggi tanaman dihitung pada awal penanaman dan hari terakhir pengamatan.
- c. Kerapatan sel penyusun kayu, diukur pada akhir periode pengamatan terhadap bagian batang yang terbentuk.

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.