

BAB I PENDAHULUAN

1.1 LATAR BELAKANG

Tanaman Gerunggang (*Cratoxylum arborescens*) merupakan salah satu tanaman yang memiliki kemampuan hidup baik, daya adaptasi pada kondisi ekstrim dan mengembalikan zat hara sehingga cocok digunakan sebagai tanaman rehabilitasi (Mojiol 2014 ; Junaedi 2018 ; Gunawan et al, 2014). Persebaran tanaman gerunggang di Indonesia meliputi daerah Sumatra Utara, Barat, Selatan, Jambi dan Riau (Denny & Kalima 2017). Tanaman gerunggang termasuk kedalam tanaman multi fungsi dimana semua bagian tanaman gerunggang dapat di dimanfaatkan (Arsakit, 2020). Son (2020) menyatakan, gerunggang memiliki aktivitas farmakologis sebagai anti kanker yang berpotensi untuk dikembangkan, hal ini didukung dari hasil analisis fitokimia yang dilakukan oleh (Ibrahim et al., 2015), ekstrak kulit kayu gerunggang mengandung senyawa *xanthon*. Berdasarkan data IUCN (*international union for conservation of nature and resource*), tanaman gerunggang termasuk dalam kategori jenis *least concern* (LC) yang berarti beresiko rendah, namun dilihat dari manfaat tanaman gerunggang diperlukan tindakan pelestarian dalam skala yang besar untuk mengantisipasi pemanfaatan yang berlebih. Pelestarian tanaman gerunggang telah dilakukan oleh masyarakat Bengkalis yang menggunakan metode perbanyakan secara generatif, dengan cara mengumpulkan biji dan anakan yang diambil di alam liar, kemudian biji akan disemai dan ditumbuhkan di area persemaian dan anakan akan ditanam pada lahan sendiri (Enggar & Kurniawan, 2019).

Perbanyakan tanaman gerunggang secara vegetatif juga sudah dilakukan dengan menggunakan metode stek pucuk (Danu & Junaedi, 2019). Perbanyakan vegetatif ini memiliki kelemahan yaitu memerlukan waktu yang cukup lama untuk menghasilkan bibit dalam jumlah yang besar. Berdasarkan uraian tersebut, perlu ditemukan metode alternatif lain, salah satunya yaitu metode kultur jaringan (Dewanti, 2018). Perbanyakan tanaman secara mikro dengan teknik kultur jaringan adalah suatu alternatif untuk perbanyakan vegetatif dalam jumlah besar. Kultur jaringan tanaman adalah teknik menumbuh kembangkan bagian dari suatu tanaman baik berupa seperti jaringan, sel ataupun organ dalam kondisi aseptik secara *in vitro* (Marpaung, et al., 2020).

Keberhasilan kultur jaringan sendiri dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya faktor media, jenis eksplan dan konsentrasi zat pengatur tumbuh (ZPT) yang digunakan (Kumar & Reddy, 2011). Media tempat tumbuh memiliki peran sangat penting untuk memberikan nutrisi bagi eksplan tanaman (Kyte et al., 2013). Secara umum media yang sering digunakan dalam kultur jaringan adalah media MS (*Murashige Skoog*), karena mengandung unsur hara yang lengkap meliputi unsur hara makro: Ca, Mg, N, K, S, dan P, unsur hara mikro: B, Cu, Co, Mo, Mn, Na, dan Zn, vitamin, unsur bahan organik, dan sumber karbon. Media MS mengandung makro nitrogen dan kalium yang cukup tinggi untuk menginduksi regenerasi tanaman (Delidha & Devi. 2016) Media lain seperti WPM (*Woody Plant Medium*) media ini ditujukan untuk kultur jaringan tanaman berkayu karena mengandung sulfat tinggi dengan kadar ion total rendah. Pada media ini terdapat unsur hara makro, antara lain K_2SO_4 dengan NH_4NO_3 , $MgSO_4$, $Ca(NO_3)_2$, dan vitamin.

Unsur hara yaitu: Na₂EDTA, FeSO₄, H₃BO₃P, MnSO₄, Na₂MoO₄, dan juga ZnSO₄ (Nursetiadi&Eka. 2008).

Perbanyakan tanaman melalui teknik kultur jaringan dapat diterapkan untuk menghasilkan benih yang seragam, bibit bebas hama dan penyakit, stabil, dan dapat diproduksi dalam waktu yang relatif singkat. Sedangkan media DKW (*Driver dan Kuniyaki Walnut*) memiliki unsur Kalsium yang lebih tinggi dibandingkan dengan media MS, unsur hara makro lainnya meliputi magnesium, kalium, natrium, klorida, sulfat, dan unsur hara mikro : Mn, B, Cu, Ni, dan Zn (Rahman 2018).

Pembuatan media selain nutrisi biasanya perlu ditambahkan satu atau lebih ZPT untuk memacu pertumbuhan pada tanaman, jenis ZPT yang umum dipakai adalah dari golongan auksin, sitokinin. Aktivitas ZPT di dalam pertumbuhan tanaman dapat dipengaruhi oleh jenis tanaman, struktur kimia, konsentrasi, genotipe tanaman serta fase fisiologi tanaman (Lestari, 2011). Kelompok auksin yang memiliki peranan untuk menginduksi akar yaitu IBA (*indole3butyric acid*), NAA (*naphthaleneacetic acid*), NAO (*naphthoxyacetic acid*), pCPA (*para- chlorophenoxyacetic acid*) (Prasetyorini, 2019). Sedangkan kelompok sitokinin adalah hormon yang berperan dalam pembelahan sel, dan induksi tunas yaitu BAP (*benzy amino purine*), 2-ip (*isopentenyl-adine*), dan kinetin (*fufurylamino purine*) (Prasetyorini, 2019).

Berdasarkan uraian tersebut didapatkan informasi bahwa penelitian tanaman gerunggang menggunakan teknik kultur jaringan *in-vitro* belum pernah dilakukan sehingga penelitian ini berfungsi sebagai bahan informasi untuk melakukan penelitian. Alasan lain dilakukan penelitian ini untuk membantu instansi Balai Perbenihan Tanaman Hutan (BPTH) mendapatkan informasi tentang jenis media, jenis zat pengatur tumbuh, dan konsentrasi BAP yang baik untuk multiplikasi tanaman gerunggang.

1.2 TUJUAN DAN KEGUNAAN

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan konsentrasi hormon *Benzyl Amino Purin* (BAP) yang terbaik dalam efektivitas pertumbuhan tanaman Gerunggang pada media agar. Kegunaan dari penelitian ini yaitu sebagai bahan informasi mengenai konsentrasi hormon BAP yang tepat pada pertumbuhan tanaman Gerunggang dengan metode *In-Vitro*. Kegunaan dari penelitian ini adalah sebagai sumber informasi ilmiah bagi pengembangan teknik perbanyakan tanaman gerunggang melalui kultur jaringan, khususnya dalam pemilihan media dan penggunaan hormon pertumbuhan yang tepat pada tahap multiplikasi.

BAB II METODE PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada Bulan Oktober 2024 sampai Bulan Februari 2025, di Laboratorium Kultur Jaringan Balai Perbenihan Tanaman Hutan (BPTH) Wilayah II Makassar.

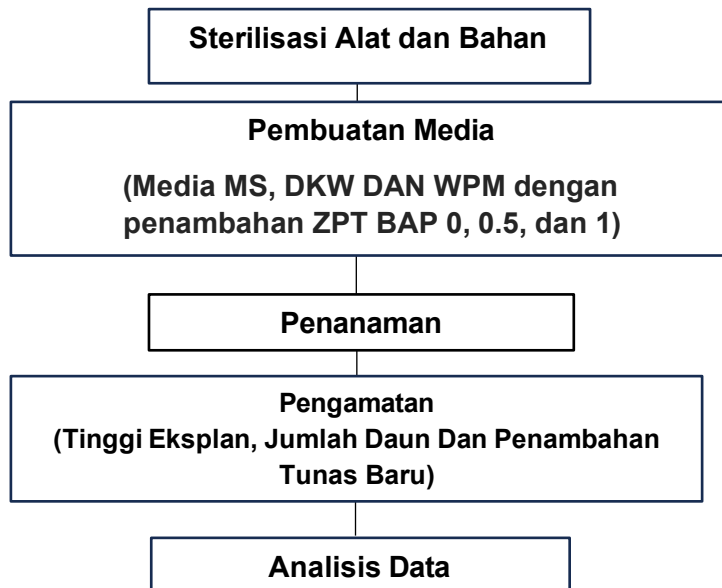
2.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *Laminar Air Flow Cabinet* (L AFC), *autoclave*, oven, timbangan analitik, *hot plate*, *magnetic stirrer*, lampu bunsen, pH meter, *micropipet*, alat gelas standar (gelas piala, gelas ukur, cawan Petri, dan botol kultur). Alat berupa pinset, gagang, pisau scalple, dan gunting alat penunjang lainnya yaitu rak kultur, korek api, *log book* dan alat dokumentasi.

2.3 Bahan Penelitian

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini yaitu planlet tanaman gerunggang subkultur ke-6 yang diperoleh dari Laboratorium Kultur Jaringan Balai Perbenihan Tanaman Hutan Wilayah II Makassar, adapun benih yang digunakan berasal dari Esaflora Bogor subkultur ke-6. Media yang digunakan adalah media MS (*Murashige dan Skoog*) berfungsi sebagai media kontrol dan media DKW (*Driver dan Kuniyaki Walnut*) dan WPM (*Woody Plant Medium*) sebagai media parameter yang terdiri atas larutan stok hara makro, stok hara mikro, stok FeSo₄, stok vitamin, *Myo-inositol*, glukosa. Zat pengatur tumbuh (ZPT) yang digunakan yaitu *Benzyl Amino Purin* (BAP). Bahan sterilisasi yang digunakan yaitu aquades, alkohol, dan spritus. Adapun bahan tambahan lain seperti kertas saring, label, plastik wrapping, masker, tissue, alkohol 70%, alkohol 90%, *handscoon*, ATK, *hand-sprayer* dan masker.

2.4 Alur Penelitian



Gambar 1. Bagan Alur Penelitian

2.5 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian ini terdiri atas beberapa tahapan yang dimulai dari sterilisasi alat, pembuatan media, subkultur, pengamatan serta pengambilan data.

2.5.1 Tahap Sterilisasi Alat Dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam perbanyakan tanaman dengan teknik kultur jaringan harus terbebas atau steril dari mikro organisme lain seperti jamur dan bakteri, hal itu dikarenakan eksplan atau planlet yang digunakan sangat rentan terhadap serangan jamur dan bakteri yang dapat menyebabkan kegagalan. Langkah-langkah yang dapat dilakukan untuk mensterilkan alat dengan cara yang pertama mencuci alat yang akan digunakan dalam penelitian. Kedua, mensterilkan alat dan bahan menggunakan *autoclave* untuk botol kultur, alat diseksi cawan Petri, pinset, gunting, *scalpel*, dan aquades menggunakan suhu 121°C selama 20 menit. Dimana alat diseksi dibungkus terlebih dahulu dengan kertas agar tetap bersih dan steril saat dipindahkan ke laminar. Sedangkan untuk media pada suhu 121°C selama 15 menit. Sterilisasi sangat penting dalam teknik kultur jaringan untuk menjaga dari awal penanaman sampai selesai tanaman tetap dalam keadaan steril tanpa adanya kemungkinan serangan bakteri dan jamur yang bisa bersumber dari alat dan bahan yang digunakan serta planlet itu sendiri. Maka dapat disimpulkan bahwa kondisi yang steril dapat meningkatkan persentase keberhasilan dalam kultur jaringan dan menurunkan resiko kontaminasi yang bisa menghambat dan mempengaruhi baik pertumbuhan maupun hasil tanaman.

2.5.2 Pembuatan Media

Menyiapkan 3 gelas piala yang berbeda (untuk media MS, WPM dan DKW) berukuran 1000 ml dan masing-masing diisi dengan aquades steril sebanyak 1/3 volume gelas piala yang diletakkan di atas hot plate stirrer. Menambahkan larutan stok yang terdiri dari stok A, B, C, D, E, F dan G sesuai konsentrasi, lalu tambahkan gula sebanyak 30 gram dan menuangkan zat pengatur tumbuh Benzyl Amino Purin (BAP). pencampuran dilakukan dengan menyesuaikan konsentrasi sesuai perlakuan yang dirancang, yaitu 0 ppm, 0,5 ppm, dan 1 ppm. Menambahkan aquades steril hingga volume mencapai 1000 ml kemudian larutan dihomogenkan dengan *magnetic stirrer*. Mengukur pH larutan dengan pH meter dimana pH media yang dibutuhkan 5,6-5,8. Setelah pH sesuai kemudian dimasukkan agar pematat sebanyak 7 gram. Lalu larutan media dipanaskan menggunakan *microwave* hingga mendidih. Setelah itu media dituangkan ke dalam botol kultur lalu mensterilkan botol-botol yang berisi media dengan *autoclave* pada tekanan 1 atm dan suhu 121°C selama 15 menit. Media yang telah disterilkan dikeluarkan dari *autoclaf* dan siap digunakan jika sudah dalam keadaan padat.

2.5.3 Penanaman Eksplan

Eksplan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman gerunggang, Penanaman dilakukan dalam *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), dengan menyiapkan planlet yang disubkultur, kemudian mengeluarkan planlet dan diletakkan pada cawan petri yang diberikan kertas saring sebagai alas. Selanjutnya membersihkan planlet dari sisa-sisa media yang masih menempel karena dapat menjadi penyebab terjadinya kontaminasi. Planlet yang digunakan dalam kondisi sehat dengan tinggi yang seragam 2 cm, kemudian menanam *planlet* pada media yang telah disediakan sebanyak 1 planlet setiap botol. Selesai menanam planlet dilanjutkan dengan menutup botol menggunakan plastik yang diikat dengan karet gelang dan dililit dengan plastik *wrap* untuk memastikan media tertutup dengan baik, kemudian memberikan label sebagai sumber informasi tentang tanggal subkultur. Proses penanaman dengan langkah-langkah yang tepat dapat menghindarkan dari tingkat kontaminasi planlet serta bisa membantu mengoptimalkan pertumbuhan planlet dengan lingkungan yang sesuai.

2.6 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang dilakukan adalah rancangan acak lengkap (RAL) 1 faktor yang terdiri atas 9 perlakuan dengan 3 ulangan, sehingga keseluruhan total unit pengamatan 27 unit dengan penanaman pada setiap unit terdapat 3 eksplan sehingga didapatkan total 81 sampel pengamatan. adapun konsentrasi ZPT yang digunakan dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Perlakuan pada jenis media yang digunakan dalam penelitian gerunggang secara *in vitro*

NO	Perlakuan	Komposisi Media Perlakuan
1	P1	MS 0
2	P2	MS + BAP 0,5 ppm
3	P3	MS + BAP 1 ppm
4	P4	DKW 0
5	P5	DKW+ BAP 0,5 ppm
6	P6	DKW +BAP 1 ppm
7	P7	WPM 0
8	P8	WPM+ BAP 0,5 ppm
9	P9	WPM+ BAP 1 ppm

2.7 Variabel Pengamatan

Pengamatan dilakukan setelah penanaman selama 1 bulan. Dengan Variabel pengamatan yang diamati diantaranya :

1. Pertumbuhan tinggi (cm), diukur perminggu mulai pada minggu ke-3 setelah tanam, secara manual dengan mengukur tinggi tanaman pada planlet menggunakan mistar.
2. Pertambahan jumlah daun (helai), dihitung dari jumlah daun yang terbentuk dan dihitung pada akhir penelitian pada minggu ke-8 secara manual dengan menghitung tiap helai daun pada planlet.
3. Penambahan tunas baru, dihitung berdasarkan tunas yang tumbuh dan di hitung pada akhir penelitian yaitu pada minggu ke-8 secara manual dengan menghitung jumlah tunas yang tumbuh

2.8 Analisis Data

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan uji ANOVA satu arah menggunakan software IBM SPSS dan *Microsoft Excel*. Jika pada ANNOVA didapatkan nilai $p \geq 0,05$ artinya berpengaruh tidak nyata, sedangkan jika nilai $p \leq 0,05$ artinya berpengaruh nyata maka dilanjutkan dengan uji Duncan pada taraf 95%.