BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tanaman konifer merupakan jenis tananam yang banyak dibudidayakan sebagai tanaman hutan di dunia. Tercatat, pada tahun 1993 didapatkan informasi bahwa dari 25.250 juta hektar (ha) luas hutan tanaman dunia, sekitar 75% atau 18.950 juta hektar (ha) diantaranya adalah merupakan tanaman konifer (Nugroho et al., 2004). Pinus merupakan salah satu jenis tanaman konifer yang menjadi andalan dalam pembangunan hutan tanaman. Pinus merupakan genus dari tanaman konifer yang memiliki berbagai macam jenis. Di Indonesia, jenis pinus yang banyak dijumpai adalah Pinus merkusii Jungh & de Vries yang berasal dari daerah Sipirok, Tapanuli Selatan, Sumatera Utara yang kemudian dikembangkan ke daerah lain melalui penanaman, salah satunya ke Pulau Jawa.

Pinus merkusii Jungh. & de Vries banyak ditanam di daerah-daerah di Indonesia karena *Pinus merkusii* merupakan primadona (60%) dalam penyelamatan hutan, tanah dan air khususnya kegiatan reboisasi dan penghijauan oleh Kementerian Kehutanan yang telah dilaksanakan sejak era tahun 60-an (Sallata, 2013). Penanaman pinus semakin ditingkatkan di masa kini dan masa mendatang, karena pinus merupakan tanaman yang memiliki banyak keunggulan dan hampir semua bagian tanamannya dapat dimanfaatkan, mulai dari batang yang dimanfaatkan di bidang industri seperti bahan konstruksi, korek api, pulp, dan serat panjang. Kulit pinus dapat dijadikan sebagai bahan bakar dan abunya sebagai campuran dalam pembuatan pupuk karena memiliki kandungan kalium yang tinggi. Getah pinus mengandung gondorukem dan terpentin (Hidayat dan Hansen, 2001). Terpentin merupakan golongan minyak atsiri yang terdiri dari komponen utama alpha pinen yang merupakan senyawa yang dapat memberikan aroma yang khas pada tumbuhan (Dahlian & Hertoyo, 1997). Minyak atsiri berperan sebagai antiseptik/anti bakteri, anti jamur, perangsang selera makanan, deodoran, ekspektoran, dan insektisida (Yuliani, 2012). Gondorukem merupakan olahan dari getah pinus yang kebutuhannya sangat di butuhkan oleh pasar dunia. Di Indonesia, produksi gondorukem masih kurang memenuhi kebutuhan pasar dunia dibandingkan dengan Cina (Sukmananto, 2012).

Kebutuhan akan hasil hutan terus meningkat seiring dengan meningkatnya pertumbuhan populasi penduduk di dunia (Biondi dan Thorpe, 1981). Akan tetapi hal ini tidak diimbangi dengan daya regenerasinya yang cepat dari tanamantanaman hutan tersebut. Perkembangbiakan pinus secara alami membutuhkan waktu yang sangat lama. Pada *Pinus merkusii*, perbanyakan, seleksi, maupun perbaikan genetis secara konvensional berjalan sangat lambat dikarenakan Pinus merkusii ini memiliki siklus hidup yang panjang, yaitu sekitar 20-50 tahun. Selain itu, waktu yang diperlukan untuk pembentukan biji mulai dari terjadinya penyerbukan hingga biji matang dengan embrio yang siap berkecambah adalah sekitar dua tahun (Vashista, 1983). Perkembangbiakan vegetatif pada pinus dapat dilakukan melalui cangkok dan stek, tetapi cara ini kurang praktis digunakan untuk perbanyakan tanaman karena sulitnya merangsang pembentukan akar (Becwar dan Wann, 1986). Sementara itu penyediaan biji melalui perbanyakan secara konvensional kurang memadai untuk suatu tanaman atau jenis pohon yang akan dikembangkan secara luas (Sukmadjaja, 2005). Metode konvensional ini kurang praktis dan membutuhkan waktu yang relatif lama untuk perbanyakan tanaman. Dengan adanya kendala seperti itu, maka perlu dilakukan dengan cara yang lain untuk usaha pemercepatan waktu produksi pohon pinus yaitu dengan melakukan teknik *in vitro* atau yang biasa disebut kultur jaringan (Saputro, 2017).

Teknik *in vitro* atau kultur jaringan merupakan teknik yang salah satunya dapat dimanfaatkan untuk pembudidayaan jaringan ataupun organ agar menjadi organisme yang utuh dan memiliki sifat mirip dengan induknya. Teknik *in vitro* ini merupakan cara atau teknik perbayakan tanaman dengan cara mengisolasi bagian-bagian vegetatif dari tanaman, seperti daun, tunas, akar, ataupun biji dengan cara menumbuhkannya di media buatan yang bersifat aseptik dengan diberikan nutrisi dan zat pengatur tumbuh. Perlakuan ini dimaksudkan untuk memodifikasi media tersebut sesuai dengan kondisi lingkungan sebenarnya, sehingga tanaman tersebut mampu meregenerasi sel untuk menjadi tanaman yang lengkap yang memiliki sifat genetik yang sama dengan induknya dalam jumlah yang banyak (Generasi Biologi, 2011).

Salah satu teknik *in vitro* yang dapat membantu konservasi tanaman konifer dengan penyediaan bibit dan perbanyakan genotip yang cepat yaitu melalui

embriogenesis somatik (Percy *et al.*, 2000). Embriogenesis somatik merupakan suatu proses pembentukan embrio dari sel-sel somatik dalam kondisi *in vitro* (Becwar *et al.*, 1988). Dalam skala besar, perbanyakan tanaman melalui embriogenesis somatik dapat menurunkan jumlah pekerja, ruang, dan waktu (Chand & Singh, 2001). Embriogenesis somatik menjadi metode pilihan untuk perbanyakan tanaman konifer karena tingkat produktivitasnya yang tinggi dan dapat dilakukan secara terus-menerus (Percy *et al.*, 2000).

Embriogenesis somatik adalah pembentukkan embrio dari sel-sel non seksual (sel somatik) yang dikulturkan (Wetherell, 1976). Embriogenesis somatik menurut Purnamaningsih (2002) adalah suatu proses dimana sel somatik (baik haploid maupun diploid berkembang membentuk tumbuhan baru melalui tahap perkembangan embrio tanpa melalui melalui penyatuan gamet. Hal ini menuntut para peneliti untuk menghasilkan *embrio suspensor mass* (kultur embriogenik yang terdiri dari bayak embrio somatik) dengan mencari eksplan megagametofit yang mengandung embrio yang berada pada tahap *cleaveage poliembryony* (tahap induksi ulang dari tahap pembelahan) untuk ditanam pada medium induksi.

Dalam kultur *in vitro* embriogenesis somatik terdapat empat tahapan. Tahapan tersebut adalah induksi, proliferasi, pematangan, dan perkecambahan termasuk aklimatisasi tanaman baru untuk ditanam di lingkungan alaminya. Tahap induksi merupakan tahap paling penting karena merupakan tahap awal yang mendasari tahap-tahap selanjutnya (Newton *et al.*, 1995).

Faktor-faktor yang mempengaruhi induksi embrio somatik yaitu jenis medium, kombinasi dan konsentrasi zat pengatur tumbuh (ZPT), dan eksplan (Salajova *et al.* 1996). Medium sangat berperan penting dalam embriogenesis somatik (Bercetche dan Paques, 1995). Medium yang dianggap paling cocok digunakan untuk induksi embrio somatik pinus adalah medium *Douglas Cotyledon Reserve* (DCR) (Gupta dan Durzan, 1985). Kombinasi ZPT juga menentukan keberhasilan induksi embrio somatik. Induksi embrio somatik tanpa ZPT memiliki tingkat keberhasilan yang sangat rendah (Nurdini, 2005). Kombinasi auksin dan sitokinin yang banyak digunakan dalam menginduksi embrio somatik masing-masing adalah asam 2,4 Dikloropenoksiasetik (2,4-D) dan Benzil Amino Purin (BAP) (Purnamaningsih, 2002), seperti pada *Pinus nigra*

(Salajova *et al.*, 1995), *Pinus elliottii* (Newton *et al.*, 1995), *Pinus lambertiana* (Gupta, 1995), *Pinus pinaster* (Bercetche dan Paques, 1995), *Pinus strobus* (Kaul, 1995), dan *Pinus merkusii* (Rahmadani, 2007). Pada penelitian sebelumnya Rusfiandi (2007) dan Dinar (2007), embrio somatik dalam biji pinus telah berhasil diinduksi dan berploriferasi menghasilkan 14 kultur kalus *Pinus merkusii*. 14 kultur tersebut dikembangkan dalam media DCR dengan komposisi ZPT 9 μM 2,4-D dengan 2 μM BAP dan 9 μM 2,4-D dengan 4 μM BAP, sedangkan dalam penelitian Rahmadhani (2007) embrio somatik yang berhasil diinduksi merupakan eksplan yang dikembangkan pada media DCR dengan komposisi 7 μM 2,4-D dengan 2 μM BAP dan 9 μM 2,4-D dengan 3 μM BAP, serta pada penelitian yang dilakukan Nurdini (2005) kultur yang ditanam pada medium DCR dengan kombinasi 2,4-D dan BAP masing-masing 7 μM dan 4μM, 9 μM dan 2 μM, 9 μM dan 4 μM telah berhasil menginduksi pembentukan embrio somatik.

Eksplan dalam kultur jaringan merupakan hal yang paling penting yang menentukan berhasil atau tidaknya suatu kultur yang diberi perlakuan. Maka dari itu, sangat penting untuk memilih eksplan yang baik sebelum dilakukan penanaman. Pada penelitian ini, eksplan yang digunakan adalah eksplan megagametofit immature zigotik embrio yang masih berada dalam fase proembrio. Pada penelitian yang telah dilakukan sebelumnya oleh Fikri (2018) dan Rahmadhani (2007) menyebutkan bahwa eksplan megagametofit yang masih berada dalam fase proembrio adalah eksplan yang berasal dari strobilus yang berwarna hijau mengkilat yang memiliki ukuran sekitar 5-7 cm. Tetapi, dalam kenyataannya, hal tersebut tidak menjamin bahwa megagametofit yang terkandung di dalamnya sedang berada pada masa proembrio. Maka dari itu, perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk menemukan eksplan terbaik. Dengan adanya kasus demikian, dilakukan penelitian kultur embriogenesis somatik menggunakan perlakuan karakter morfologi warna untuk melihat dan mengetahui eksplan yang baik untuk melakukan kultur embrio somatik. Penggunaan karaketristik warna ini efektif digunakan dalam penentuan fase embrio karena lebih spesifik dan lebih terlihat perbedaannya.

Kultur embrio somatik yang telah berhasil mengalami induksi akan mengalami perkembangan ke tahap selanjutnya, yaitu proliferasi. Tahap

5

proliferasi ditandai dengan adanya perkembangan pada juluran putih seperti benang menjadi kultur embriogenik yang berwarna putih bening atau transparan, *mucilaginous*, dan terdapat banyak embrio somatik yang disebut sebagai *Embryo suspensor mass* (ESM).

Dalam penelitian yang akan dilakukan bertujuan membandingkan embrio somatik yang berhasil di induksi dan berproliferasi dengan menggunakan eksplan yang memiliki morfologi yang berbeda, yaitu menggunakan megagametofit yang berwarna putih dan megagametofit yang berwarna bening dengan menggunakan media DCR dengan komposisi 7 μM 2,4-D dengan 4 μM BAP (DB74) dan 9 μM 2,4-D dengan 3μM BAP (DB93). Dari penelitian ini, diharapkan diperoleh sejumlah informasi mengenai bagaimana pengaruh morfologi megagametofit dan zat pengatur tumbuh (2,4-D dan BAP) terhadap induksi dan proliferasi embrio somatik *Pinus merkusii*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan hal-hal yang telah diuraikan di atas, pada penelitian ini dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

Bagaimana pengaruh ragam morfologi eksplan megagametofit dan ZPT terhadap induksi dan proliferasi embrio somatik *Pinus merkusii* pada medium DCR?

1.3 Pertanyaan Penelitian

Dari rumusan masalah yang didapatkan, muncul pertanyaan penelitian sebagai berikut:

- 1.3.1 Bagaimana pengaruh ragam morfologi eksplan megagametofit dan ZPT terhadap induksi embrio somatik *Pinus merkusii* pada medium DCR dan berapakah persentase induksi yang dihasilkan?
- 1.3.2 Bagaimana pengaruh ragam morfologi eksplan megagametofit dan ZPT terhadap proliferasi embrio somatik *Pinus merkusii* pada medium DCR dan berapakah persentase proliferasi yang dihasilkan?

1.4 Batasan Masalah

1.4.1 Eksplan yang digunakan adalah megagmetofit *Pinus merkusii* yang didapatkan dari strobilus muda berukuran 5-7 cm dengan warna hijau mengkilat.

- 1.4.2 Perbedaan morfologi eksplan megagametofit yang digunakan adalah berdasarkan karakteristik warna dan ukuran megagametofit. Warna megagametofit yang digunakan adalah warna putih dan warna bening. Megagametofit dengan warna putih susu pekat memiliki ukuran yang lebih besar dibandingkan dengan megagametofit yang berwarna bening.
- 1.4.3 Medium yang digunakan adalah medium *Douglas Cotyledon Reserve* (DCR) yang dikembangkan oleh (Gupta & Durzan (1985).
- 1.4.4 Parameter yang digunakan untuk melihat keberhasilan embriogenesis adalah dilihat dari terbentuknya embriogenesis somatik pada fase proembrio yang merupakan kontinuitas dari adanya polyembrionik yang terjadi di dalam megagametofit.

1.5 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk:

- 1.5.1 Menganalisis pengaruh ragam morfologi eksplan megagametofit dan ZPT terhadap induksi dan proliferasi embrio somatik *Pinus merkusii* pada medium DCR.
- 1.5.2 Memperoleh persentase keberhasilan induksi dan proliferasi embrio somatik *Pinus merkusii* dari eksplan megagametofit dengan karakter morfologi dan ZPT yang berbeda.

1.6 Manfaat

Dengan dilakukannya penelitian ini, diharapkan temuan yang didapatkan dalam penelitian ini bermanfaat untuk:

- 1.6.1 Manfaat Teoritis
- 1.6.1.1 Untuk menambah referensi dalam penelitian tentang kultur *in vitro* tanaman *Pinus merkusii*.
- 1.6.1.2 Untuk menambah khazanah ilmu pengetahuan dalam penelitian tentang embriogenesis somatik tanaman konifer *Pinus merkusii*. Hasil penelitian ini juga dapat digunakan sebagai pembanding, sekaligus sebagai bahan yang dapat digunakan untuk melengkapi serta memperbaiki informasi hasil penelitian sejenis yang sebelumnya telah dilakukan.

1.6.2 Manfaat Parktis

Embriogenesis somatik dalam kultur *in vitro* ini diharapkan dapat membantu konservasi tanaman konifer dengan penyediaan bibit *Pinus merkusii* secara cepat sehingga dapat meningkatkan produksi pinus dalam waktu yang singkat.

1.7 Struktur Organisasi

Secara umum, gambaran tentang isi dari skripsi ini dapat dilihat dalam struktur organisasi kepenulisan skripsi berikut ini.

1.7.1 Bab I Pendahuluan

Pada Bab I, dijelaskan mengenai permasalahan yang menjadi latar belakang dilakukannya penelitian ini, kemudian dijelaskan pula rumusan masalah dari penelitian yang dilakukan, tujuan penelitian dibua berdasarkan rumusan masalah yang ditemukan dan tujuan dilakukannya penelitian ini, serta dipaparkan pula manfaat yang akan diperoleh dari penelitian ini, baik secara praktis maupun secara teoritis.

1.7.2 Bab II Tinjauan Pustaka

Pada Bab II dipaparkan teori-teori yang relevan dengan penelitian yang dilakukan. Pertama, teori yang dipaparkan adalah mengenai *Pinus merkusii*, yang meliputi klasifikasi dan morfologi pinus, habitat, persebaran, serta siklus, strutur biji dan megagametofit *Pinus merkusii*, serta kegunaan dan manfaat dari *Pinus* merkusii. Kedua, dipaparkan mengenai pengertian dari mikropopagasi. Ketiga, dipaparkan teori mengenai embriogenesis somatik mulai dari pengertian, serta tahapan-tahapan dalam embriogenesis somatik, keempat dipaparkan mengenai teori induksi embriogenesis somatik, dan kelima dipaparkan mengenai faktorfaktor yang mempengaruhi embriogenesis somatik.

1.7.3 Bab III Metode Penelitian

Pada Bab III, dijelaskan metode penelitian yang digunakan secara terperinci. Adapun Sub bab yang dijelaskan adalah desain penelitian, populasi dan sampel, instrumen penelitian, serta prosedur kerja. Adapun dalam prosedur kerja terdiri dari tahapan-tahapan dalam dalam pelaksanaan, yaitu tahap persiapan, tahap pelaksanaan eksperimen, dan tahap pengumpulan dan analisis data.

1.7.4 Bab IV Temuan dan Pembahasan

Pada bab IV, dijelaskan mengenai temuan yang didapatkan selama dilakukan penelitian. Pada bab IV ini dibahas mengenai respon induksi embriogenesis somatik, baik berdasarkan zat pengatur tumbuh (ZPT), maupun berdasarkan berdasarkan ragam morfologi yang digunakan yaitu membandingkan dan menganalisis morfologi megagametofit yang berwarna putih dan berwarna bening. Selain itu, dibahas pula mengenai respon proliferasi yang terjadi selama masa penelitian. Mulai dari perkembangan massa somatik embrio, sampai dengan subkultur massa embrio somatik.

1.7.5 Bab V Simpulan, Implikasi dan Rekomendasi

Pada bab V dipaparkan mengenai kesimpulan yang didapatkan dari temuan hasil penelitian yang telah dilakukan. Dalam kesimpulan, dipaparkan mengenai eksplan yang baik yang bisa digunakan pada saat melakukan kultur embrio somatik, beserta konsentrasi ZPT yang cocok untuk pertumbuhan dan perkembangan embrio somatik. Implikasi penulis sebagai bentuk pemaknaan terhadap penemuan penelitian. Rekomendasi mengacu pada kekurangan-kekurangan yang terdapat dalam penelitian ini, serta saran untuk perbaikan pada penelitian selanjutnya.