

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pinus (*Pinus merkusi* Jung & Devr) atau lebih dikenal dengan Tusam adalah Gymnospermae yang tumbuh asli di wilayah Indonesia. *Pinus merkusii* ini merupakan salah satu tanaman hutan yang penting dalam konservasi (Dahlian dan Hartoyo, 1997). *Pinus merkusii* juga sengaja ditanam karena merupakan pohon jenis primadona (60%) sebagai Program Penyelamatan Hutan, Tanah dan Air khususnya kegiatan reboisasi dan penghijauan oleh Kementerian Kehutanan yang telah dilaksanakan sejak era tahun 60-an (PELITA I, 1969 dalam Sallata, 2013). Penanamannya terus diperbanyak karena memiliki banyak keunggulan. Hampir seluruh bagian pohonnya dapat dimanfaatkan dalam industri seperti kayu, getah dan resin. Resinnya dapat diolah lebih lanjut menjadi alpha pinen yang bernilai ekonomi tinggi. Getah *Pinus merkusii* juga diproduksi dan diolah menjadi gondoruken dan terpetin. Terpetin digunakan untuk bahan industri parfum, disinfektan dan obat-obatan. Hasil kayunya bermanfaat dalam konstruksi, korek api, pulp dan serat panjang. Kulitnya dimanfaatkan sebagai bahan bakar dan abunya sebagai campuran dalam pembuatan pupuk karena kandungan kaliumnya yang tinggi (Dahlian dan Hartoyo, 1997).

Kebutuhan akan hasil hutan terus meningkat seiring dengan meningkatnya pertumbuhan populasi penduduk di dunia (Widyastuti,

2002). Di Indonesia, *Pinus merkusii* menjadi salah satu produk turunan hutan utama yang dimanfaatkan dalam skala besar (PELITA I, 1969 dalam Sallata, 2013). Permintaan *Pinus merkusii* terutama kayu, getah dan turunannya semakin meningkat dari tahun ketahun akibat dari pemanfaatnya yang luas dan beragam, namun tingginya permintaan *Pinus merkusii* tidak sebanding dengan daya regenerasinya. Daya regenerasi *Pinus merkusii* tergolong rendah karena siklus hidupnya yang panjang, yaitu sekitar 20-50 tahun (Hidayat dan Hansen, 2001). Dibutuhkan waktu 30 tahun untuk produksi kayu yang optimal sebagai standar yang ditetapkan oleh administrasi kehutanan Indonesia (Orwa dkk., 2009). Proses pembentukan biji *Pinus merkusii* mulai dari penyerbukan sampai matangnya biji dengan embrio yang siap berkecambah membutuhkan waktu sekitar dua tahun (Gupta, 1988).

Perbanyakan *Pinus merkusii* secara vegetatif dilakukan dengan dua cara yakni secara konvensional melalui stek pucuk dan pencangkakan (Corryanti dan Rahma, 2015), cara kedua melalui teknik kultur jaringan (Taryono, 2005). Kultur jaringan sebagai penerapan teknologi *in vitro* (mikropropagasi) merupakan salah satu pilihan yang dipandang dapat menyelesaikan permasalahan dalam budidaya *Pinus merkusii*. Perbanyakan tanaman melalui *in vitro* memiliki berbagai keunggulan antara lain dapat memperbanyak tanaman (*plantlet*) hanya dari sepotong jaringan atau organ yang dikultur, dilakukan dalam waktu yang singkat, tidak perlu menunggu seluruh siklus hidup dari pengembangan benih. Untuk spesies yang memiliki waktu generasi lama, tingkat produksi benih yang rendah, atau benih yang sulit

Rai Irtifaul Fikri, 2018

RESPONS EKSPLAN MEGAGAMETOFIT *Pinus merkusii* Jung. & Devr. PADA MEDIA DCR DENGAN KOMBINASI ZPT BA, 2,4-D DAN NAA YANG BERBEDA
Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu |
perpustakaan.upi.edu

berkecambah, penggunaan teknik *in vitro* adalah solusi yang tepat dalam percepatan propagasi (Shohael, 2008).

Sistem regenerasi tanaman melalui kultur *in vitro* dapat dilakukan melalui dua cara yaitu organogenesis dan embriogenesis somatik. Embriogenesis somatik secara khusus menawarkan potensi besar bagi produksi tanaman skala besar dengan biaya yang rendah (Gupta, 1988). Untuk tumbuhan konifer, proses embriogenesis somatik menunjukkan sistem regenerasi tanaman yang sangat baik yang dapat dijadikan studi teoritis pengembangan tanaman awal untuk propagasi vegetatif pohon skala besar. Embriogenesis somatik pada konifer sebagai sistem regenerasi tanaman juga memainkan peran penting dalam pendekatan bioteknologi sebagai transformasi genetik dan kriopreservasi (Salaj dkk., 2015).

Embriogenesis somatik adalah suatu pembentukan embrio dari bagian somatik tanaman yang bukan termasuk sel zigotik. Sumber sel somatik ini biasanya secara alamiah tidak terlibat dalam pembentukan dan perkembangan embrio. Penggunaan sel-sel somatik sebagai eksplan dalam protokol kultur jaringan akan memungkinkan pertumbuhan dan diferensiasi sel-sel somatik tersebut menjadi embrio, yang disebut embrio somatik (Von Arnold dkk., 2002). Embrio somatik ini saat ditumbuhkan dalam lingkungan yang sesuai, strukturnya akan terdiferensiasi dan berkembang menghasilkan tanaman yang lengkap (Salaj dkk., 2015). Embrio zigotik dan somatik memiliki karakteristik tahapan perkembangan yang sama, kecuali pada tahap yang paling awal,

Rai Irtifaul Fikri, 2018

RESPONS EKSPLAN MEGAGAMETOFIT Pinus merkusii Jung. & Devr. PADA MEDIA DCR DENGAN KOMBINASI ZPT BA, 2,4-D DAN NAA YANG BERBEDA
Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu |
perpustakaan.upi.edu

karena berasal dari dua jenis sel yang berbeda. Jika embrio zigotik berasal dari hasil fertilisasi, sementara embrio somatik berasal dari sel-sel somatik (Von Arnold dkk., 2002).

Terdapat empat tahapan dalam mikropropagasi melalui embriogenesis somatik. Tahapan tersebut adalah induksi, proliferasi, pematangan, dan perkecambahan termasuk aklimatisasi tanaman baru untuk ditanam di lingkungan alaminya (Newton dkk., 1995). Proses ini pertama kali diterapkan pada wortel di tahun 1958 dan kemudian pada spesies Angiospermae lainnya. Untuk konifer, embriogenesis somatik pertama kali diaplikasikan pada Spruce Norwegia (Hakman dkk., 1985; Chalupa, 1985) dan kemudian banyak diterapkan pada spesies konifer lainnya yang termasuk dalam genus *Abies*, *Picea*, *Pinus*, *Larix*, *Pseudotsuga*, dan *Taxus*. Hingga saat ini penelitian mengenai embriogenesis somatik terus dilakukan pada konifer, seperti pada *Pinus nigra* Arn. mengenai pengujian potensi embrio zigotik yang belum matang untuk menghasilkan jaringan embriogenik menggunakan media kultur berbeda yang dikombinasikan dengan garam anorganik dan zat pengatur tumbuh (ZPT) (Salaj dkk., 2013). Pada *Pinus thunbergii* Parl. mengenai pengaruh desikasi embriogenesis somatik terhadap peningkatan frekuensi perkecambahan (Maruyama and Hosoi, 2016). Pada *Cunninghamia lanceolata* (Lamb.) Hook mengenai penggunaan embrio zigotik sebagai eksplan dalam embriogenesis somatik dan menelusuri pengaruh asam absisat (ABA) dan polietilen glikol (PEG) pada tahap pematangan (Hu dkk., 2017). Di Indonesia sendiri, propagasi secara besar-besaran pada *Pinus merkusii* masih menggunakan teknik

Rai Irtifaul Fikri, 2018

RESPONS EKSPLAN MEGAGAMETOFIT *Pinus merkusii* Jung. & Devr. PADA MEDIA DCR DENGAN KOMBINASI ZPT BA, 2,4-D DAN NAA YANG BERBEDA
Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu |
perpustakaan.upi.edu

konvensional yakni dengan memperbanyak vegetatif melalui teknik stek batang dan cangkok (Corryanti dan Rika, 2015). Meskipun penelitian mengenai embriogenesis somatik pada konifer sudah banyak dilakukan namun hasilnya belum banyak berkembang.

Menurut Becwar dan Pullman (1995) embrio somatik merupakan kelanjutan proses pembelahan poliembrioni dari embrio zigotik. Hal ini menuntut para peneliti untuk menghasilkan *embryo somatic mass* dengan mencari eksplan megagametofit yang mengandung embrio yang berada pada *stage cleavage polyembryoni* untuk ditanam pada medium induksi. Pada beberapa konifer pembentukan *embryo somatic mass* dapat dilalui dengan dua jalur, yaitu langsung dan tidak langsung, dan perbedaan utama antara keduanya adalah dengan atau tanpa fase kalus *intervening* dari induksi hingga pematangan (Bozhkov dkk., 1997; Hu dkk., 2017).

Secara umum embriogenesis somatik dikendalikan oleh sejumlah faktor kimia yang berbeda. Faktor-faktor yang berpengaruh dalam menginduksi embriogenesis somatik *in vitro* sangat bervariasi, seperti berbagai hormon tanaman yang mengendalikan cekaman pada eksplan (Fehér dkk., 2003). Keterlibatan hormon dan ZPT dengan embriogenesis somatik secara *in vitro* telah dibahas oleh Jiménez (2001, 2005) dimana penambahan ZPT dalam medium memberikan efek baik secara langsung atau tidak langsung dengan mempengaruhi metabolisme endogen dari fitohormon yang terkandung dalam eksplan. Sebagai contoh, *2,4-dichlorophenoxyacetic acid* (2,4-D) dapat bertindak sebagai

Rai Irtifaul Fikri, 2018

RESPONS EKSPAN MEGAGAMETOFIT *Pinus merkusii* Jung. & Devr. PADA MEDIA DCR DENGAN KOMBINASI ZPT BA, 2,4-D DAN NAA YANG BERBEDA
Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu |
perpustakaan.upi.edu

stressor dalam medium embriogenesis somatik, yang dalam beberapa catatan dianggap sebagai respon cekaman ekstrim dari sel-sel yang di kultur (Fehér dkk., 2003). Hipotesis ini didukung oleh hasil penelitian yang menunjukkan bahwa beberapa pengendalian cekaman dalam eksplan dapat memicu embrio somatik (Gaj, 2004). Adapun secara molekuler dan genetik regulasi hormonal dijelaskan oleh Rose dan Nolan (2006) dimana terdapat peningkatan regulasi ekspresi gen selama embriogenesis somatik berlangsung dalam medium yang disuplai oleh auksin dan sitokinin.

Zat pengatur tumbuh pada tahapan inisiasi embriogenesis somatik Pinaceae yang biasa digunakan adalah sitokinin seperti *6-benzyladenine* (BA) dan auksin seperti *2,4-dichlorophenoxyacetic acid* (2,4-D). Beberapa penggunaan BA rentangnya berkisar antara 2.25 ± 5.0 μM seperti $4,5$ μM BA pada *Pinus strobus* (Klimaszewska dkk., 2001), $2,7$ μM pada *Pinus radiata* D. Don (Montalba'n dkk., 2011), $4,4$ μM pada *Pinus pinaster* (Miguel dkk., 2004), $4,4$ μM pada *Pinus rigida* \times *P. taeda* (Kim dan Moon, 2007) dan $2,2$ μM *Pinus nigra* (Salaj dkk., 2013). Adapun 2,4-D yang digunakan adalah $2,2$ μM pada *Pinus strobus* (Klimaszewska dkk., 2001), $4,5$ μM untuk *Pinus radiata* Don (Montalba'n dkk., 2011), $13,6$ μM untuk *Pinus pinaster* (Miguel dkk., 2004), 9 μM pada hibrida *Pinus rigida* \times *Pinus taeda* (Kim dan Moon, 2007) dan 9 μM untuk *Pinus nigra* (Salaj dkk., 2013). Jenis auksin selain 2,4-D dapat diganti dengan $10,7$ μM *1-naphthaleneacetic acid* (NAA) pada *Pinus taeda* atau dalam kombinasi dengan 2,4-D yang

Rai Irtifaul Fikri, 2018

RESPONS EKSPLAN MEGAGAMETOFIT *Pinus merkusii* Jung. & Devr. PADA MEDIA DCR DENGAN KOMBINASI ZPT BA, 2,4-D DAN NAA YANG BERBEDA
Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu |
perpustakaan.upi.edu

keduanya pada konsentrasi 4,5 μM di *Pinus halepensis* (Montalbán dkk., 2016).

Penelitian embriogenesis somatik untuk menginisiasi *embryo somatic mass* *Pinus merkusii* pernah dilakukan oleh Rahmadani (2007) dan Rusfiandi (2007). Hasilnya menunjukkan bahwa induksi embrio somatik tertinggi didapat dari megagametofit yang diberi perlakuan pendinginan dan ditanam pada medium dengan masing-masing kombinasinya 9 μM 2,4-D dengan 3 μM dan 4 μM 6-Benzylaminopurine (BAP). Selain dihasilkannya embrio somatik, eksplan yang ditanam juga memberikan respon lain seperti kalus, pembentukan kecambah dan pembesaran jaringan. Pada tahap pra penelitian, kombinasi ini diulang, namun embrio somatik yang dihasilkan dari perlakuan tersebut tidak dapat dilanjutkan untuk tahapan maturasi. Studi mengenai respon yang muncul dari eksplan megagametofit dalam embriogenesis somatik *Pinus merkusii* ini perlu ditelusuri lebih dalam untuk mengetahui pembentukan embrio somatik yang paling tepat.

Berdasar pada penelitian sebelumnya, embrio somatik tertinggi pada *Pinus merkusii* dalam tahap induksi terbentuk pada medium *Douglas Cotyledon Reserve* (DCR) (Gupta dan Durzan, 1985) yang mengandung 9 μM 2,4-D dan 4 μM BAP (Rusfiandi, 2007), 9 μM 2,4-D dan 3 μM BAP (Rahmadani, 2007). Penelitian lain mengungkapkan bahwa ZPT yang digunakan dalam induksi dan poliferasi pada *Pinus* secara umum sitokinin diwakili oleh BA dan auksin oleh 2,4-D. Berbeda dengan *Pinus halepensis* Montalbán dkk. (2013)

Rai Irtifaul Fikri, 2018

RESPONS EKSPLAN MEGAGAMETOFIT *Pinus merkusii* Jung. & Devr. PADA MEDIA DCR DENGAN KOMBINASI ZPT BA, 2,4-D DAN NAA YANG BERBEDA
Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu |
perpustakaan.upi.edu

mengombinasikan BA dengan campuran jenis auksin yang berbeda yakni 2,4-D dengan 1-*Naphthaleneacetic acid* (NAA) dengan masing-masing 4.5 μM memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan penggunaan 2,4-D sebagai pemasok ZPT auksin secara utuh (Montalbán dkk., 2013).

Pentingnya peranan ZPT dalam medium induksi, ZPT menjadi faktor yang perlu ditelusuri lebih lanjut sebagai pemicu respon megagametofit untuk tujuan mengoptimasi hasil induksi embriogenesis somatik *Pinus merkusii*. *Pinus merkusii* dan *Pinus halepensis* merupakan dua spesies *Pinus* yang berada dalam genus yang sama, diharapkan respon akibat kondisi lingkungan dapat mempengaruhi ekspresi yang serupa, sehingga dilakukanlah penelitian untuk melihat respon eksplan megagametofit dalam medium DCR melalui kombinasi ZPT BA, 2,4-D dan NAA yang berbeda.

1.2 Rumusan Masalah

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

Bagaimanakah respon dan keberhasilan induksi dari megagametofit *Pinus merkusii* yang dikultur pada medium DCR yang mengandung hormon BA yang dikombinasikan dengan jenis auksin yang berbeda?

1.3 Batasan Masalah

Ruang lingkup penelitian dibatasi pada hal-hal sebagai berikut :

Rai Irtifaul Fikri, 2018

RESPONS EKSPLAN MEGAGAMETOFIT *Pinus merkusii* Jung. & Devr. PADA MEDIA DCR DENGAN KOMBINASI ZPT BA, 2,4-D DAN NAA YANG BERBEDA

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu |
perpustakaan.upi.edu

- 1.3.1 Eksplan yang digunakan adalah megagametofit *Pinus merkusii* yang didapat dari strobilus muda berukuran 5-7 cm dengan warna hijau mengkilat.
- 1.3.2 Semua eksplan yang digunakan berasal dari pohon *Pinus merkusii* yang berada di Pondok Hijau dan Lapang Berdebu, UPI.
- 1.3.3 Zat pengatur tumbuh yang digunakan adalah auksin meliputi 2,4-D dan NAA dengan konsentrasi masing-masing 9 μ M dan 4.5 μ M serta sitokinin menggunakan BA dengan konsentrasi 2 μ M, 3 μ M dan 4 μ M.
- 1.3.4 Parameter yang digunakan untuk melihat respon *in vitro* adalah respon megagametofit yang menghasilkan embrio somatik, kalus, kecambah dan pembengkakkan jaringan dalam delapan minggu kultivasi.

1.4 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis efektivitas penggunaan kombinasi auksin yang berbeda dengan BA sebagai ZPT pada medium induksi somatik embriogenesis pada *Pinus mekrusii*. Tujuan tersebut dijabarkan melalui:

Menemukan, mengidentifikasi respon *in vitro* dan keberhasilan induksi embriogenesis somatik dari megagametofit yang ditanam pada medium DCR yang mengandung 2,4-D, NAA dan BA.

Rai Irtifaul Fikri, 2018

RESPONS EKSPLAN MEGAGAMETOFIT *Pinus merkusii* Jung. & Devr. PADA MEDIA DCR DENGAN KOMBINASI ZPT BA, 2,4-D DAN NAA YANG BERBEDA

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu |
perpustakaan.upi.edu

1.5 Manfaat

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

- 1.5.1 Mendukung pengembangan mikropropagasi pada *Pinus merkusii*
- 1.5.2 Sebagai rujukan untuk penelitian lanjutan mengenai peningkatan hasil induksi embriogenesis somatik pada *Pinus merkusii*
- 1.5.3 Sebagai pembanding sekaligus bahan dalam melengkapi dan memperbaiki informasi hasil penelitian sejenis yang telah dilakukan sebelumnya.

1.6 Struktur Organisasi

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

1.6.1 Bab I Pendahuluan

Pada Bab I, dijelaskan mengenai apa masalah yang menjadi latar belakang dilakukannya penelitian ini, kemudian dijelaskan pula masalah serta batasannya. Selain itu dijelaskan pula tujuan dan manfaat dari penelitian ini.

1.6.2 Bab II Kajian Pustaka

Rai Irtifaul Fikri, 2018

RESPONS EKSPLAN MEGAGAMETOFIT *Pinus merkusii* Jung. & Devr. PADA MEDIA DCR DENGAN KOMBINASI ZPT BA, 2,4-D DAN NAA YANG BERBEDA
Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu |
perpustakaan.upi.edu

Pada Bab II dipaparkan teori-teori yang relevan dan digunakan dalam penelitian ini. Pertama dijelaskan mengenai *Pinus merkusii* berupa klasifikasi, morfologi, sebaran, habitat, siklus hidup, dan struktur biji serta manfaatnya. Kedua, dijelaskan mengenai embriogenesis somatik dan tahapan yang harus dilalui dalam menggunakan teknik ini. Ketiga mengenai peranan medium dan ZPT dalam kultur *in vitro*. Keempat mengenai eksplan yang digunakan dalam kultur embriogenesis somatik pada konifer. Kelima, mengenai respon yang mungkin muncul dalam kultur induksi embriogenesis somatik pada *Pinus merkusii*.

1.6.3 Bab III Metode Penelitian

Pada Bab III, dijelaskan metode penelitian yang digunakan secara terperinci. Adapun sub bab yang dijelaskan adalah desain dan jenis penelitian, subjek penelitian, waktu dan lokasi penelitian, prosedur penelitian dan teknik analisis data.

1.6.4 Bab IV Temuan dan Pembahasan

Pada Bab IV, dikemukakan tentang temuan penelitian dan pembahasan yang dikembangkan dari penemuan penelitian. Perolehan data didapatkan melalui prosedur penelitian yang terdapat pada Bab III. Data tersebut kemudian dianalisis dan dikaitkan dengan teori-teori yang ada pada Bab II.

1.6.5 Bab V Simpulan, Implikasi dan Rekomendasi

Pada bab V, dipaparkan kesimpulan dari hasil analisis penelitian implikasi serta rekomendasi penulis sebagai bentuk pemaknaan terhadap penemuan penelitian. Rekomendasi didasarkan

Rai Irtifaul Fikri, 2018

RESPONS EKSPLAN MEGAGAMETOFIT *Pinus merkusii* Jung. & Devr. PADA MEDIA DCR DENGAN KOMBINASI ZPT BA, 2,4-D DAN NAA YANG BERBEDA
Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu |
perpustakaan.upi.edu

pada kekurangan-kekurangan yang ditemukan pada penelitian serta upaya untuk perbaikan pada penelitian selanjutnya.

Rai Irtifaul Fikri, 2018

RESPONS EKSPLAN MEGAGAMETOFIT Pinus merkusii Jung. & Devr. PADA MEDIA DCR DENGAN KOMBINASI ZPT BA, 2,4-D DAN NAA YANG BERBEDA

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu |
perpustakaan.upi.edu