

MORFOGENESIS EKSPLAN TUNAS *Eucalyptus pellita* F. MUELL SECARA *IN VITRO* PADA MEDIA MURASHIGE AND SKOOG DENGAN ZAT PENGATUR TUMBUH BENZIL AMINO PURIN

(Plant morphogenesis from shoot explant of *Eucalyptus pellita* F. Muell
by in vitro technique in MS Medium with Benzil Amino Purin plant growth regulator)

Ellok Dwi Sulichantini¹, Eliyani¹, Alvera Prihatini Dewi Nazari¹

Jurusan Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Mulawarman

Jl. Pasir Balengkong, Kampus Gunung Kelua, Samarinda

Corresponding author e-mail: ellokds@gmail.com.

Article Submitted: 27-08-2020

Article Accepted : 16-09-2020

ABSTRACT

Eucalyptus pellita is a fast growing species and has many advantages such as pulp and paper industry raw material, building construction, charcoal, and medicine. The research was carried out to study plant morphogenesis from shoot explant of *E. pellita* F. Muell by in vitro technique. The experiment was conducted at Tissue Culture Laboratory, Agriculture Faculty of Mulawarman University from March until June 2016. A single-factor experiment was arranged in a Completely Randomized Design with 10 replications. The factor was BAP concentrations (B) consisted of 1.00 mg BAP L⁻¹ (b₁); 2.00 mg BAP L⁻¹ (b₂); 3.00 mg BAP L⁻¹ (b₃); and 4,00 mg BAP L⁻¹ (b₄). The explants were inoculated on MS medium supplemented with BAP according to the treatments. Data analyzed by analysis of variance (ANOVA) and continued by Least Significant Difference (LSD) test with a level of 5%. The results of the experiment showed that the BAP concentrations can promote shoot formation of *E. pellita*. Statistical analysis indicated that the effect of BAP concentrations significantly different on the number of shoots at 8 weeks after inoculation (WAI), shoot length, and several leaves at 4; 6; and 8 WAI, however, it's no significant difference on shoot formation time and several shoots at 4 and 6 WAI. The highest number of shoots, shoot length, and several leaves achieved by 4,00 mg BAP L⁻¹.

Keywords: *Eucalyptus pellita*, BAP, in vitro

PENDAHULUAN

Eucalyptus pellita merupakan tanaman yang cepat tumbuh dan tidak menuntut persyaratan yang tinggi terhadap tempat tumbuhnya, mempunyai banyak manfaat yaitu untuk bahan pembuatan rumah, jembatan, bantalan kereta api, kapal, furniture, kayu bakar, arang, dan bahan baku industri pulp (Anonim, 1994; Anonim, 2013). Hardwood, (1998) dan Widyana dkk, (2000) menambahkan, selain sebagai bahan baku pulp dan kertas, kayu *Eucalyptus* digunakan untuk konstruksi

bangunan dan telah lama dipergunakan untuk industri arang di Brazil, sehingga menjadikannya sebagai tanaman yang bernilai ekonomi tinggi. Sampai saat ini, bahan baku industri pulp belum mencukupi, oleh karena itu peningkatan mutu dan hasil *E. pellita* terus dilakukan dalam program pemuliaan tanaman. Agar diperoleh keturunan yang sama dengan induknya, maka tanaman hasil pemuliaan perlu diperbanyak secara vegetatif, salah satu diantaranya adalah dengan teknik kultur jaringan.

Teknik kultur jaringan mempunyai keunggulan dibandingkan teknik perbanyakan vegetatif yang lain, yaitu dapat memperbanyak tanaman dalam jumlah besar dalam waktu singkat, sehingga sangat berguna untuk memperbanyak material unggul yang langka dan berumur panjang, serta menghasilkan keturunan yang sama dengan induknya. Keberhasilan perbanyakan secara vegetatif tergantung antara lain pada juvenilitas pohon induk. Semakin muda pohon induk, tingkat regenerasinya semakin tinggi. Tingkat juvenilitas tanaman dapat dipertahankan melalui perbanyakan berseri, pemangkasan, subkultur beberapa kali, dan penyimpanan jaringan (Bonga dan Aderkas, 1993; Talbert *et al.*, 1993; Haapala *et al.*, 2004).

Perbanyakan secara kultur jaringan telah berhasil dilakukan pada *Eucalyptus* species maupun hybrid. Kultur jaringan *E. pellita* telah berhasil dilakukan dengan menggunakan ruas batang (nodal segment) dan ditanam pada media yang mengandung auksin dan sitokinin (Brondani *et al.*, 2011). Eksplan yang telah digunakan pada berbagai spesies *Eucalyptus* adalah kotiledon, hipokotil dan potongan bagian-bagian daun (Nugent *et al.*, 2001; Quoirin dan Quisen, 2006; Brondani *et al.*, 2011).

Pada kultur jaringan, morfogenesis suatu eksplan sangat dipengaruhi oleh keseimbangan zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin. Salah satu jenis sitokinin yang dipakai untuk regenerasi *E. pellita* adalah Benzil Amino Purine (BAP).

Salisbury dan Ross (1995) mengemukakan bahwa sitokinin merupakan zat pengatur tumbuh yang mendorong pembelahan sel (sitokinesis) dan pembentukan organ, menunda penuaan dan meningkatkan aktivitas wadah penampung hara, memacu perkembangan kuncup samping tumbuhan dikotil, memacu pembesaran sel pada kotiledon dan daun tumbuhan dikotil, serta memacu perkembangan kloroplas dan sintesis klorofil. Dewi (2008) menambahkan,

sitokinin memacu pembelahan sel, pertumbuhan tunas, mengaktifkan gen, serta aktivitas metabolik secara umum, namun pada saat yang sama, sitokinin menghambat pembentukan akar. Pada kultur jaringan, sitokinin dapat meningkatkan pembelahan, pertumbuhan dan perkembangan kultur sel tanaman. Secara umum, konsentrasi sitokinin yang dipakai antara 0,10 sampai 10,00 mg L⁻¹.

Benzil Amino Purine (BAP) merupakan sitokinin sintetik yang mempunyai struktur serupa dengan kinetin dan berdasarkan hasil pengujian Skoog, Leonard dan kawan-kawan dengan kalus tembakau, turunan-turunan adenin yang disubstitusi pada posisi 6, seperti BA, adalah yang paling aktif sebagai sitokinin (Wattimena, 1988).

Penelitian bertujuan untuk mengetahui morfogenesis eksplan tunas *E. pellita* secara in vitro.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian Universitas Mulawarman Samarinda.

Bahan yang digunakan terdiri atas eksplan tunas *E. pellita*, ZPT Benzil Amino Purin (BAP), media Murashige dan Skoog (MS), bahan-bahan sterilisasi (Dithane M-45, Bayclin, Sunlight cair, Betadin, Tween-20, alkohol 90%, alkohol 70% dan spiritus), tissue, kapas, *plastic wrap*, plastik gulung dan karet gelang.

Alat yang dipakai terdiri atas *autoclave*, *laminar air flow cabinet*, botol kultur, timbangan analitik, pH meter/pH *indicator*, alat-alat bedah, *hot plate*, kompor gas, gelas ukur, botol erlenmeyer dan *petridish*.

Percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan faktor tunggal yaitu konsentrasi BAP (B) dengan 10 ulangan. Perlakuan terdiri atas : 1,00 mg BAP L⁻¹ (b₁); 2,00 mg BAP L⁻¹ (b₂); 3,00 mg BAP L⁻¹ (b₃); 4,00 mg BAP L⁻¹ (b₄). Setiap ulangan

terdiri dari lima eksplan, sehingga total eksplan yang dipakai sebanyak $4 \times 10 \times 5 = 200$ eksplan.

Eksplan tunas disterilisasi menggunakan fungisida dan Bayclin, selanjutnya dibilas dengan air steril. Eksplan steril dipotong-potong di dalam *laminar air flow* dan ditanam pada media dasar MS yang ditambah ZPT BAP sesuai perlakuan. Selanjutnya kultur diinkubasi pada ruang kultur bersuhu $25-28^{\circ}\text{C}$. Selama periode inkubasi, kultur diinkubasi pada kondisi terang selama 24 jam, sedangkan subkultur dilakukan setiap empat minggu.

Pengamatan dilakukan setiap dua minggu sampai akhir pengamatan. Data yang dikumpulkan terdiri atas : waktu tunas terbentuk, jumlah tunas, panjang tunas, dan jumlah daun.

Sidik ragam dilakukan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi BAP, apabila hasil sidik ragam menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata, untuk membandingkan antara dua rata-rata

perlakuan dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa pengaruh konsentrasi BAP berbeda sangat nyata terhadap jumlah tunas umur 8 MSI, panjang tunas umur 4 dan 6 minggu setelah inokulasi (MSI) dan jumlah daun pada umur 6 dan 8 MSI; berbeda nyata terhadap panjang tunas umur 8 MSI, dan jumlah daun pada umur 4 MSI; tetapi berbeda tidak nyata terhadap waktu tunas terbentuk dan jumlah tunas umur 4 dan 6 MSI. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan BAP dengan konsentrasi 1,00; 2,00; 3,00; dan 4,00 mg BAP L^{-1} pada media kultur MS mampu menginduksi tunas *E. pellita* (Tabel 1)

Rekapitulasi data hasil penelitian morfogenesis eksplan tunas *E. pellita* secara in vitro disajikan pada Tabel 1.

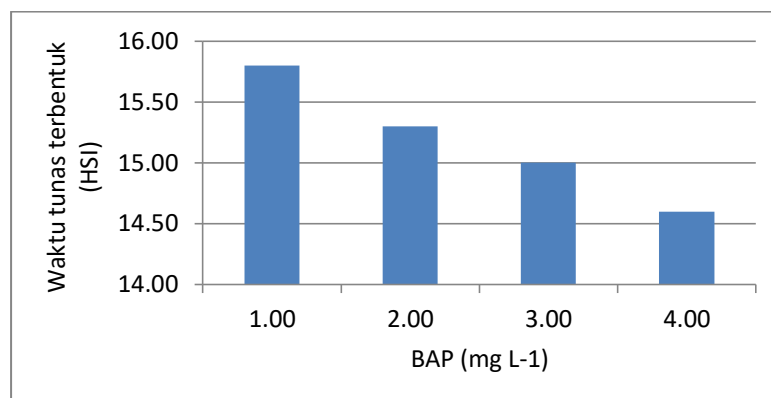
Tabel 1. Rekapitulasi Data Hasil Penelitian Morfogenesis Eksplan Tunas *E. pellita*

Konsentrasi BAP <i>Concentrations of BAP</i> (mg L^{-1})	Waktu tunas muncul <i>Shoot formation time</i> (DAI)	Jumlah tunas <i>Number of shoots</i> (shoot)			Panjang tunas <i>Shoot length</i> (cm)			Jumlah daun <i>Number of leaves</i> (sheet)		
		4 MSI	6 MSI	8 MSI	4 MSI	6 MSI	8 MSI	4 MSI	6 MSI	8 MSI
	HSI	 tunas			 cm			 helai		
	tn	tn	tn	**	**	**	*	*	**	**
1,00	15,80	1,00	1,50	1,50 ^a	1,00 ^a	1,75 ^a	2,40 ^a	1,20 ^a	2,40 ^a	2,40 ^a
2,00	15,30	1,00	1,60	1,90 ^a	1,30 ^b	1,85 ^{abc}	2,50 ^{ab}	1,40 ^b	2,80 ^a	3,20 ^b
3,00	15,00	1,20	1,60	2,40 ^b	1,40 ^b	2,05 ^{bc}	2,60 ^{ab}	2,00 ^c	4,00 ^b	4,80 ^c
4,00	14,60	1,30	2,00	2,60 ^b	1,45 ^b	2,20 ^c	2,70 ^b	2,20 ^d	4,80 ^b	5,40 ^d
KK (%)	4,35	9,00	10,95	22,73	21,37	13,36	2,30	21,83	10,70	24,60

Keterangan: Angka rata-rata yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom menunjukkan berbeda nyata pada uji BNT 5%. tn = pengaruh konsentrasi BAP berbeda tidak nyata; * = pengaruh konsentrasi BAP berbeda nyata; ** = pengaruh konsentrasi BAP berbeda sangat nyata.

Penambahan BAP dengan konsentrasi yang dipakai menunjukkan pengaruh yang berbeda tidak nyata terhadap waktu tunas terbentuk (Tabel 1),

walaupun ada kecenderungan semakin tinggi konsentrasi yang dipakai, waktu tunas terbentuk semakin cepat (Gambar 1).



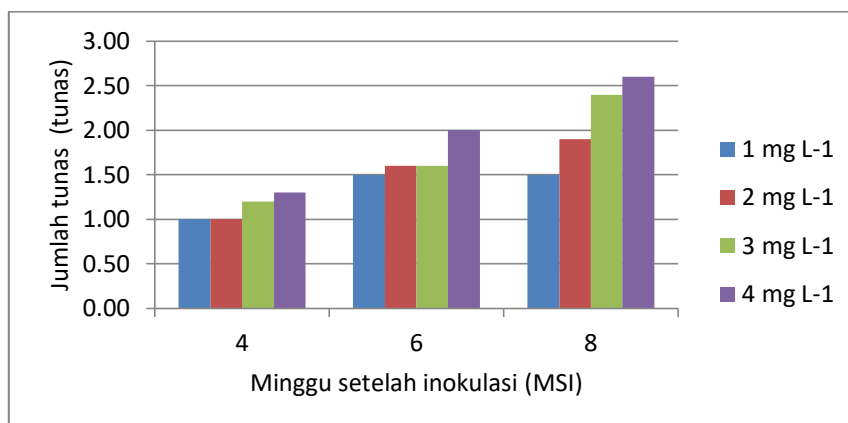
Gambar 1. Pengaruh konsentrasi BAP terhadap waktu tunas *E. pellita* terbentuk

Terbentuknya tunas *E. pellita* menunjukkan bahwa umur eksplan mempengaruhi kemampuan regenerasi sel sebagaimana dilaporkan oleh Sulichantini (1998) pada penelitian induksi embrio somatik dari beberapa tipe eksplan pada beberapa kultivar kacang tanah, bahwa semakin muda umur eksplan, regenerasinya akan semakin tinggi.

Pengamatan terhadap jumlah tunas menunjukkan pengaruh konsentrasi BAP berbeda tidak nyata pada umur 4 dan 6 MSI, tetapi berbeda sangat nyata pada umur 8 MSI. Ada kecenderungan semakin tinggi konsentrasi BAP, semakin banyak jumlah tunas yang terbentuk (Gambar 2). Pembentukan tunas adalah hasil pembelahan, pembesaran, dan diferensiasi sel, proses-proses tersebut sangat dipengaruhi oleh ketersediaan zat pengatur tumbuh, diantaranya sitokinin. Salisbury dan Ross (1995) mengemukakan bahwa pertumbuhan dan perkembangan sel dihasilkan dari tiga peristiwa yang sederhana, yaitu pembelahan, pembesaran, dan diferensiasi sel. Sitokinin merupakan zat

pengatur tumbuh yang mendorong pembelahan sel (sitokinesis) dan pembentukan organ. Dewi (2008) menambahkan, sitokinin memacu pembelahan sel, pertumbuhan tunas. Pada kultur jaringan, sitokinin dapat meningkatkan pembelahan, pertumbuhan dan perkembangan kultur sel tanaman. Secara umum, konsentrasi sitokinin yang dipakai antara 0,10 sampai 10,00 mg L⁻¹. Pada umur 4 dan 6 MSI, pengaruh konsentrasi BAP tidak berbeda secara nyata terhadap jumlah tunas disebabkan pada umur 4 dan 6 MSI, konsentrasi BAP yang diberikan belum mampu memacu pembelahan sel secara nyata.

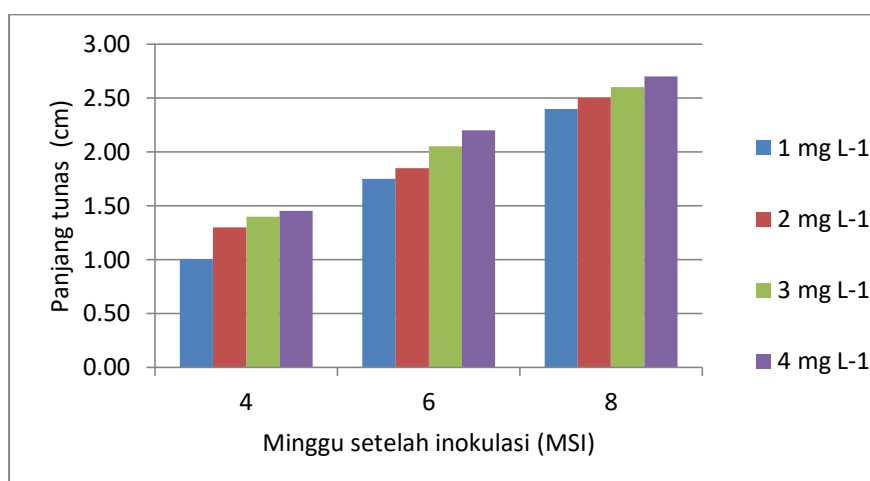
Jumlah tunas pada umur 8 MSI dipengaruhi sangat nyata oleh konsentrasi BAP (Tabel 1). Semakin lama waktu inkubasi, pengaruh konsentrasi BAP akan semakin nyata berbeda. Hal ini disebabkan 8 minggu setelah inokulasi, konsentrasi BAP yang terakumulasi pada eksplan mencapai kadar yang cukup untuk memacu pembelahan sel secara nyata.



Gambar 2. Pengaruh konsentrasi BAP terhadap jumlah tunas *E. Pellita*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa panjang tunas dan jumlah daun dipengaruhi secara nyata oleh konsentrasi BAP pada semua umur pengamatan (Tabel 1). Penambahan BAP pada media MS mampu mendorong pembelahan sel dan pembentukan organ meskipun tanpa

penambahan IAA pada media kultur yang dipakai, sehingga selain memacu pembentukan tunas dan daun, BAP akan memacu pemanjangan tunas dan memperbanyak jumlah daun *E. pellita* (Gambar 3 dan 4).



Gambar 3. Pengaruh konsentrasi BAP terhadap panjang tunas *E. pellita*

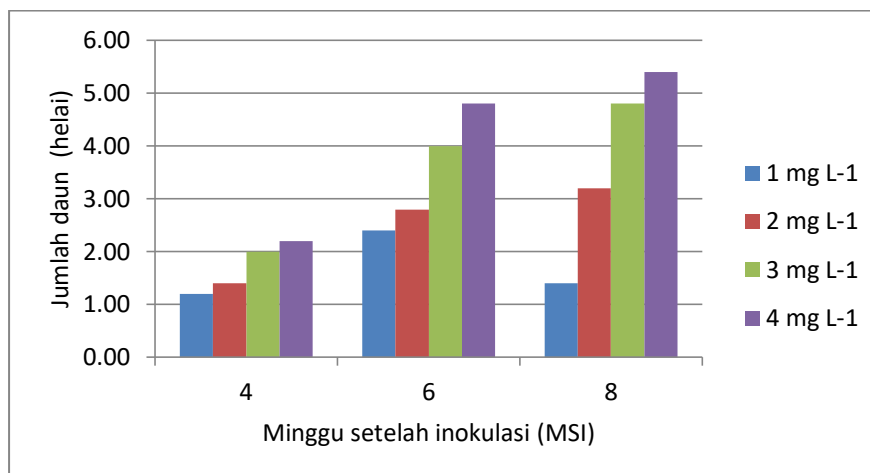
Hal ini sesuai dengan pendapat Salisbury dan Ross (1995) bahwa sitokinin merupakan zat pengatur tumbuh yang mendorong pembelahan sel (sitokinesis) dan pembentukan organ. Dewi (2008) menambahkan, sitokinin memacu pembelahan sel, pertumbuhan tunas, mengaktifkan gen, serta aktivitas metabolik secara umum. Pada kultur jaringan, sitokinin dapat meningkatkan pembelahan,

pertumbuhan dan perkembangan kultur sel tanaman.

Pembelahan sel merupakan salah satu diantara tiga tahap pertumbuhan dan perkembangan sel. Pembelahan menyebabkan jumlah sel bertambah banyak, diikuti dengan pembesaran, yaitu sel yang terbentuk membesar volumenya, sehingga terjadi peningkatan ukuran, dan terakhir adalah diferensiasi sel, yaitu sel yang telah

mencapai ukuran maksimum akan terspesialisasi menjadi berbagai jaringan dan organ sebagaimana dinyatakan oleh Salisbury dan Ross (1995), bahwa

pertumbuhan dan perkembangan sel dihasilkan dari tiga peristiwa yang sederhana, yaitu pembelahan, pembesaran, dan diferensiasi sel.



Gambar 4. Pengaruh konsentrasi BAP terhadap jumlah daun *E. pellita*

Benzil Amino Purine termasuk golongan sitokinin sintetik yang paling aktif memacu pembelahan sel, sebagaimana diungkapkan oleh Wattimena (1988) bahwa BA (BAP) mempunyai struktur yang serupa dengan kinetin dan berdasarkan hasil pengujian Skoog, Leonard dan kawan-kawan dengan kalus tembakau, turunan-turunan adenin yang disubstitusi pada posisi 6, seperti BA, adalah yang paling aktif sebagai sitokinin.

Konsentrasi BAP yang dipakai pada penelitian ini berada pada kisaran yang dianjurkan sebagaimana dinyatakan oleh Dewi (2008), secara umum, konsentrasi sitokinin yang dipakai antara 0,10 sampai 10,00 mg L⁻¹.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

1. Penambahan BAP secara tunggal dengan konsentrasi 1,00; 2,00, 3,00; dan 4,00 mg L⁻¹ mampu menginduksi tunas *Eucalyptus pellita*.

2. Konsentrasi 4,00 mg BAP L⁻¹ memberikan hasil terbaik terhadap jumlah tunas, panjang tunas, dan jumlah daun *E. pellita*.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian dapat dikemukakan saran yaitu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai konsentrasi BAP maupun kombinasi BAP dengan IAA menggunakan berbagai tipe eksplan terhadap regenerasi *E. pellita*.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 1994. Pedoman Teknis Penanaman Jenis-Jenis Kayu Komersial. Badan Litbang Departemen Kehutanan, Jakarta.
- Anonim. 2013. Species information. <http://worldagroforestry.org>. Diakses pada tanggal 5 Januari 2012.
- Bonga, J.M. and P. Von Aderkas. 1993. Rejuvenation of tissue from mature conifers and its implications for

- propagation in vitro. In Ahuja M.R. and W.J. Libby (eds.). Clonal Forestry: Genetics and Biotechnology. Springer-Verlag, Berlin.
- Brondani, G.E., L.F. Dutra, J. Wendling, F. Grossi, F.A. Hansel, and M.A. Araujo. 2011. Micropropagation of an *Eucalyptus* hybrid (*Eucalyptus benthamii* x *Eucalyptus dunnii*). Acta Sci. Agron. 33 (4): 20-27.
- Dewi, I.R. 2008. Peranan dan Fungsi Fitohormon bagi Pertumbuhan Tanaman. Fakultas Pertanian Universitas Padjajaran, Bandung.
- Haapala, T., A. Pakkanen and P. Pulkkinen. 2004. Variation in survival and growth of cuttings in two clonal propagation methods for hybrid Aspen (*Papua tremula_P. tremuloides*). Forest Ecology and Management 193: 345-354.
- Hardwood, C. 1998. *Eucalyptus pellita*-an annotated bibliography. CSIRO Publishing: Collingwood, Victoria.
- Nugent, G., S.F. Chandler, P. Whiteman, T.W. Stevenson. 2001. Adventitious bud induction in *Eucalyptus globulus* Labill. Vitro Cell Dev. Biol. Plant. 37: 388-391. DOI: 10.1007/s11627-001-0068-0. Diakses tanggal 6 Januari 2012.
- Quoirin, M. And R. Quisen. 2006. Advance in Genetic Transformation of *Eucalyptus* Species. Molecular Biology of Tropical Plants. pp. 41-56.
- Salisbury, F.B. dan C.W. Ross. 1995. Fisiologi Tumbuhan Jilid 3 edisi keempat. Terjemahan Diah R. Lukman dan Sumaryono. ITB, Bandung.
- Sulichantini, E.D. 1998. Induksi Embrio Somatik dari Beberapa Tipe Eksplan Beberapa Kultivar Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* L.). Thesis Program Pascasarjana IPB, Bogor. Tidak diterbitkan.
- Talbert, C.B., G.A. Ritchie and P. Gupta. 1993. Conifer vegetative propagation an overview from a commercialization prospective. In Ahuja M.R. and W.J. Libby (eds.). Clonal Forestry I: Genetics and Biotechnology. Springer-Verlag, Berlin.
- Wattimena, G.A. 1988. Zat Pengatur Tumbuh Tanaman. PAU IPB bekerja sama dengan Lembaga Sumberdaya Informasi-IPB, Bogor.
- Widyana, Y., M. Na'iem dan S. Danarto, 2000. Studi pendahuluan fenologi pembungaan *Eucalyptus pellita* F. Muell di Wanagama I Gunung Kidul, Yogyakarta. Prosiding Seminar Nasional Status Silvikultur 1999. E.B. Hardiyanto (ed.) Fakultas Kehutanan UGM, Yogyakarta.