

## BIOTEKNOLOGI PENYEDIAAN BENIH KEHUTANAN

Koordinator : Maria Imelda  
Anggota : D. Priadi  
          E.R. Rasmadi  
          E.S. Mulyaningsih  
          E. Sudarmonowati  
          Lydia  
          M.S. Prana  
          N. Artanti  
          N. Sumiasri

P. Deswina  
P. Lisdiyanti  
Ramlanto  
S. Adisunarto  
S. Atmowidjojo  
S. Sastrapradja  
T. Kuswara  
U. Soetisna

### PENDAHULUAN

Untuk mendukung terlaksananya program Hutan Tanaman Industri yang sedang giat digalakkan pemerintah, diperlukan bibit tanaman HTI yang berkualitas tinggi, relatif seragam dan berjumlah banyak. Mengingat keunggulan bioteknologi dalam penyediaan bibit tanaman hortikultura, pangan, perkebunan sudah banyak terbukti, metoda tersebut juga perlu diterapkan pada tanaman kehutanan.

Dalam proyek ini dipilih 4 jenis tanaman HTI meliputi mangium (*Acacia mangium*), sengon (*Paraserianthes falcataria*), sungkai (*Peronema canescens*) dan matoa (*Pometia pinnata*) untuk diteliti perbanyakannya melalui pendekatan bioteknologi khususnya teknik biak sel dan jaringan serta secara konvensional (biji dan stek). Keempat jenis tersebut dipilih mengingat semuanya memiliki nilai komersial, tumbuh cepat, merupakan tumbuhan asli Indonesia dan bagi sungkai dan matoa, belum banyak mendapat perhatian. Namun sebelum sampai ke tahap perbanyak massal, telah dilakukan seleksi varietas melalui kerakterisasi morfologi dan pengujian benih yang merupakan hasil pengumpulan dari berbagai daerah di Indonesia. Selain itu, plasma nutfah yang terkumpul juga sekaligus dikonservasikan baik di kebun plasma nutfah Cibinong maupun secara *in vitro*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan teknologi perbanyak dan pelestarian *ex vitro* dan *in vitro* serta menghasilkan bibit bermutu tinggi dari keempat jenis tanaman tersebut.

### BAHAN DAN CARA KERJA

Dalam kelompok ini dilakukan beberapa kegiatan utama, meliputi :

## 1. Pra Pembiakan

Kegiatan melakukan eksplorasi dan koleksi tanaman untuk tahun 1992/1993 ini dilaksanakan ke daerah Jawa, Riau, Bengkulu, Sumatera Selatan, Kalimantan Barat, dan Kalimantan Timur. Di samping itu dilakukan karakterisasi morfologi (daun, batang, bunga dan buah) serta ketahanannya terhadap hama dan penyakit. Koleksi terpilih yang dianggap bermutu baik selanjutnya diperbanyak. Kegiatan lainnya adalah membuat peta silvoekologi yang mencakup data jenis tanah, tipe iklim dan ketinggian tanah bagi keempat jenis tanaman tersebut, berdasarkan pustaka dan pengamatan langsung di beberapa propinsi yang dikunjungi.

## 2. Pengujian Benih

Benih hasil eksplorasi diuji di laboratorium dengan mengukur kadar air, bobot 1000 butir benih dan daya kecambahnya dengan memakai metode yang sudah umum digunakan.

$$\text{* kadar air benih} = \frac{B_0 - B_1}{B_0} \times 100 \%$$

$B_0$  = bobot benih sebelum dikeringkan  
 $B_1$  = bobot benih setelah dikeringkan pada suhu oven  $105^\circ \text{C}$  selama 24 jam atau suhu  $130^\circ \text{C}$  selama 60 menit

$$\text{* Bobot 1000 butir benih (gram)} = \frac{a_1 + a_2}{2} \times 10$$

$a_1$  = bobot 100 butir benih (ulangan 1)  
 $a_2$  = bobot 100 butir benih (ulangan 2)

$$\text{* Daya Kecambah (\%)} = \frac{\text{Jumlah benih tumbuh normal}}{\text{Jumlah benih yang diuji}} \times 100 \%$$

## 3. Elektroforesis Isozim

Kegiatan penelitian meliputi isolasi isozim dan elektroforesisnya. Bahan yang digunakan adalah daun muda mangium, sengon, sungkai; biji mangium, auriculiformis dan hibridanya serta biji sungkai dari Bengkulu (5 nomor). Untuk isolasi isoenzim daun muda/biji digerus, diekstrak dengan buffer fosfat dan disentrifugasi. Supernatannya diambil dan dielektroforesiskan pada gel. Setelah itu gel direndam dalam larutan fiksasi dan larutan perwarna (Comasie blue) selama 1 malam. Selanjutnya gel didestaining dalam larutan destaining kemudian diamati pola pita yang terdeteksi.

#### 4. Perbanyak Konvensional

Kegiatan penelitian meliputi pengaruh dosis pupuk serbuk kayu sengon pada sengon dan sabut kelapa pada mangium. Di samping itu juga dilakukan perbanyak massal sengon, mangium, sungkai dan matoa baik dengan biji maupun stek (sungkai). Pengamatan penelitian pengaruh dosis pupuk dilakukan terhadap daya kecambah, pertumbuhan tanaman dan jumlah daun rata-rata. Penelitian ini didasari pada hasil penelusuran pustaka mengenai media tumbuh yang telah banyak dipakai untuk sengon dan mangium. Sebagai pra perlakuan, biji direndam dalam air panas (180° C) yang mengandung larutan fungisida Antracol (2%) selama 5 menit.

#### 5. Perbanyak *in vitro*

Kegiatan ini meliputi pengembangan teknik perbanyak *in vitro* bagi ke 4 jenis tersebut dan teknik aklimatisasi untuk jenis yang telah berhasil diperbanyak. Metoda yang dipakai dimulai dengan memilih bahan tanaman (tunas, akar, daun dan benih) yang kemudian disterilisasi dengan alkohol, fungisida, klorox/HgCl<sub>2</sub> dengan berbagai kadar dan waktu. Setelah itu diinokulasikan dalam media MS atau WP padat maupun cair yang mengandung berbagai kadar hormon (2,4 D, NAA, IBA, BAP, Kinetin) untuk diinduksi tunas majemuk ataupun kalusnya. Inkubasi dilalukan pada ruangan bersuhu  $\pm 25^{\circ}$  C yang diberi penerangan dari lampu TL (40 W) selama 16 jam/hari. Planlet yang baik perakarannya diaklimatisasikan dengan lingkungan luar secara bertahap. Sebagai media tumbuhnya digunakan pasir, tanah + pasir atau tanah + kompos yang telah disterilkan pada autoklaf selama 20 menit pada suhu 120° C. Sebagai perlakuan akar planlet diberi rootone atau seluruh planlet dicelupkan dalam larutan fungisida difolatan/antracol.

#### 6. Preservasi *in vitro*

Preservasi *in vitro* ini baru dilakukan pada planlet mangium. Metoda yang digunakan adalah menghambat pertumbuhan dengan penambahan zat penghambat (ABA 0,4 - 1 % maleic hidrazida (10 mg/l), sukrosa (6 %), manitol (4 %), fruktosa

(4 %, 6 %), pemiskinan media (1/2 atau 1/4 konsentrasi hara), pemadatan media (agar 0,8% atau 1%) dan penurunan suhu (0° C atau 10° C).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### 1. Pra Pembiakan

Eksplorasi yang dilakukan selama tahun 1992/1993 ke propinsi Jawa Barat, Jawa Tengah, Jawa Timur, Riau, Bengkulu, Sumatera Selatan, Kalimantan Barat dan Kalimantan Timur menghasilkan 127 nomor koleksi meliputi 49 nomor mangium, 8 nomor sengon, 61 nomor sungkai dan 9 nomor matoa (Tabel 1).

Tabel 1 : Hasil eksplorasi 4 jenis tanaman HTI dari 9 propinsi

No.	Daerah Jenis	Jawa (B,I,Ta)	Riau	Bengkulu	Sunsel	Kalbar	Kaltim	Jumlah
1.	mangium	5	8	20	3	-	6	49
2.	sengon	2	-	3/3+	-	-	-	8
3.	sungkai	2+	5/17+	10/20+	-	3+	4+	61
4.	matoa	3	2+	2+	-	2+	-	9
	jumlah	12	32	58	3	12	10	127

Keterangan : + = stek/anakan

Karakterisasi menunjukkan bahwa pada mangium ada 2 variasi yaitu yang berbatang majemuk (2-5 batang) dan berbatang tunggal, matoa memiliki 4 macam variasi berdasarkan warna buah, daun muda dan semainya. Pada sungkai tampak 2 macam variasi daun yaitu yang anak daunnya sempit halus, percabangan jarang dan yang anak daunnya lebar, tidak kaku dan percabangannya banyak. Namun pada sengon belum ada variasi yang ditemukan.

Hama utama sungkai telah berhasil diidentifikasi yaitu *Zeuzera* sp. Stadium perusak adalah larvanya, yang melakukan pengeboran pada bagian dalam batang sungkai sepanjang 20 - 30 cm sehingga kayunya menjadi tidak bernilai lagi. Parasitoid hama tersebut telah diketahui, namun perlu diteliti lebih lanjut waktu dan jumlah parasitoid yang perlu dilepaskan.

Dari penelusuran pustaka dan pengamatan langsung di propinsi Irian Jaya, Riau, Sumatera Selatan, Bengkulu dan

Kalimantan Barat dapat disimpulkan silvoekologi untuk keempat jenis tanaman tersebut (Tabel 2).

Tabel 2 : Silvoekologi untuk 4 jenis tanaman HTI

Jenis	Tanah	Iklm	Ketinggian	Vegetasi
mangium	APKLP	AB1C1C2	5-400	monokultur tepi jalan
sengon	A	AB1C1C2	5-900	monokultur pelindung, sela
sungkai	PKLA	AB1C1C2	10-600	monokultur, buah-buahan, sela, pagar
matoa	APKLLi AN	AB1	0-1200	campuran gambut tipis

keterangan :

A	= Aluvial	Li	= Litosol
An	= Andosol	P	= Podsol
L	= Latosol	Pk	= Podsolik

## 2. Pengujian benih

Pengujian benih yang meliputi pengukuran kadar air, daya kecambah dan bobot 1000 butir benih telah dilakukan pada 52 nomor benih mangium, 18 nomor benih sengon, 19 nomor benih sungkai, 4 nomor benih matoa dan 2 nomor benih hibrid *A. mangium* x *A. auriculiformis* seperti pada (Tabel 3).

Pengamatan nilai perkecambahan benih sungkai masih berlangsung. Ternyata perendaman benih dalam larutan 1000 ppm GA3 selama 3 hari dapat meningkatkan daya kecambahnya menjadi 15 % perendaman dalam KNO<sub>3</sub> 2 M selama 3 hari menghasilkan daya kecambah 6,7 % sedangkan tanpa perlakuan daya kecambahnya hanya 4,4 %.

## 3. Elektroforesis Isozim

Elektroforesis isozim dari daun muda keempat jenis tersebut belum jelas hasilnya. Diperlukan buffer pengekstrak untuk mengidentifikasi pita yang terdeteksi. Elektroforesis isozim dari biji mangium yang berasal dari tempat berbeda, ternyata pola pita proteinnya juga berlainan. Pola pita protein biji mangium dan biji auriculiformis memiliki persamaan dan perbedaan sedangkan biji hibridanya mempunyai pola pita gabungan. Elektroforesis pola pita protein biji sungkai belum dapat dideteksi.

Tabel 3 : Hasil pengujian benih 4 jenis tanaman HTI

No.	Jenis	Tempat Asal	Jumlah (no)	Kadar air (%)	Daya kecambah (%)	Bobot 1000 butir (gr)
1.	mangium	Jawa Barat	15	2,8 - 11,8	64 - 87	0,4 - 7,6
		Yogyakarta	2	11,1 - 12,1	70 - 87	10,1 - 10,4
		Bengkulu	18	15,0 - 40,0	40 - 75	8,5 - 14,2
		Riau	8	14,4 - 18,7	34 - 78	7,1 - 12,7
		Maluku	9	9,6 - 20,9	10 - 86	4,5 - 12,1
		Jumlah	52			
2.	Sengon	Jawa Barat	10	2,9 - 10,1	72 - 90	20,5 - 22,9
		Jawa Tengah	1	7,9	72	22,9
		Jawa Timur	1	4,5	78	22,4
		Maluku	1	19,7	80	22,4
		Yogyakarta	1	11,2	78	24,9
		Bengkulu	3	8,5 - 12,3	60 - 80	21,4 - 24,5
		Irian Jaya	1	7,9	92	22,2
		Jumlah	18			
3.	Sungkai	Bengkulu	13	8,5 - 12,2	‡	3,3 - 4,9
		Palembang	1	8,5	‡	8,2
		Riau	5	5,3 - 10,8	‡	7,8 - 11,4
		Jumlah	19			
4.	Matoa	Jawa Barat	3	14,6 - 43,3	TT - 96	3280 - 3890
		Irian Jaya	1	-	TT	-
		Jumlah	4			
5.	hibrid (Am x Aa)	Yogyakarta	1	12,72	63	22,9
		Bengkulu	1	10,72	70	21,3
		Jumlah	2			

Keterangan : TT = tidak tumbuh      ‡ = sedang berlangsung

#### 4. Perbanyak Konvensional

Penelitian pengaruh dosis pupuk pada sengon menunjukkan bahwa daya kecambah tertinggi (91,33%) dicapai pada media tanah : pupuk = 1 : 1, pertumbuhan paling cepat ( $t = 5,83$ ) sampai umur 1 bulan pada media tanah : pupuk = 1 : 3 sedangkan jumlah daun rata-rata tidak berbeda nyata pada semua perlakuan.

Pada mangium, daya kecambah tertinggi (95,33 %) diperoleh pada media tanah : pupuk = 1 : 1, pertumbuhan paling cepat ( $t = 4,83$  cm) sampai umur 1 bulan pada media tanah : pupuk = 1 : 2 sedangkan jumlah daun rata-ratanya juga tidak berbeda nyata.

Pembibitan massal yang dilakukan secara generatif (biji) dan vegetatif (stek) telah menghasilkan 78.685 bibit, meliputi 29.400 bibit sengon, 22.295 bibit mangium, 15.000 bibit sungkai dan 12.000 bibit matao.

#### 5. Perbanyak in vitro

Mangium telah berhasil diperbanyak dari kultur tunas nodus. Media yang digunakan adalah MS + BAP (0,1 - 3 gr/l) untuk induksi tunas dan MS + BAP (2 - 3 gr/l) untuk multiplikasi tunas dan MS + IBA (0,1 - 2 gr/l) untuk pengakaran. Dari 1 nodus dalam waktu 1 bulan akan dihasilkan 7 tunas yang selanjutnya bisa membentuk sampai 80 tunas setelah 3 bulan, pengakaran juga tidak merupakan masalah, 8 akar utama terbentuk dengan mudah pada media yang mengandung IBA.

Pada sengon tunas pucuk/samping bisa menghasilkan  $\pm$  30 tunas dalam media MS yang kadar nitrogennya 1/4 normal dan mengandung BAP 1 mg/l. Pada media tersebut pembentukan kalus yang berlebihan masih terjadi walaupun sudah berkurang dibandingkan dengan yang kadar N-nya normal.

Masalah pencoklatan jaringan pada biak tunas sungkai belum bisa diatasi walaupun ke dalam medianya telah ditambahkan zat antioksidasi seperti (vitamin C, arang aktif ataupun PVP).

Demikian juga pada matao, masalah pencoklatan jaringan tersebut belum dapat dipecahkan. Namun, biak embrio mudanya bisa membentuk tunas dan daun mudanya sudah menghasilkan kalus. Penelitian masih perlu dilanjutkan untuk menginduksi kalusnya hingga membentuk embriosomatik.

Aklimatisasi planlet mangium, yang dilakukan pada media pasir, tanah + pasir atau tanah + kompos, hanya 29 yang berhasil hidup dari 147 planlet yang dikeluarkan. Umumnya mati pada umur 8 - 10 hari karena serangan penyakit damping off atau powdery mildew.

#### 6. Preservasi in vitro

Pengamatan selama 7 bulan menunjukkan bahwa manitol (4 %) paling baik dalam menghambat pertumbuhan,

penambahan sukrosa (6 %) mengakibatkan planlet mati dalam 3 minggu. Pemiskinan hara media menjadi 1/4 konsentrasi normal lebih menghambat pertumbuhan dibandingkan dengan yang 1/2 konsentrasi. Penambahan fruktosa (4 dan 6 %) mengakibatkan matinya planlet apabila disimpan lebih dari 2,5 bulan. Pengaruh maleic hidrazida belum dapat dilaporkan karena penelitiannya masih berlangsung, sedangkan suhu 0° C mematikan semua planlet dalam 3-4 minggu. Pada suhu 10° C planlet yang mati mencapai 66,7 %.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Duke, J.A. 1981. Hand Book of Legume of World Economic Importance. Plam Press, New York.
- IBPGR , 1986. IBPGR Advisory Committee on *in vitro* storage. Report of the third meeting, Valencia Spain, 4-6 June.
- Nas, 1983. Mangium and other fast growing acacias for the humid tropic. National Academy Press. Washington D.C. : 111-120.
- Umali-Garcia, M. (a.o.), 1992. Tissue Culture of *Paraserianthes falcataria* Its Relevance to tree Improvement. Bioterop Spec. popl. 49: 35-411.
- Vercourt, B.1979. A manual of New Guinea Legumes. Botany Bulletin no.11. Office of Forest "Division of Botany, Papua New Guinea" 24 pp.
-