

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Jenis Kontaminasi

Seleksi bahan eksplan yang cocok merupakan faktor penting dalam menentukan keberhasilan program kultur jaringan. Oleh karena itu, Pierik (1997), mengemukakan salah satu aspek utama yang harus diperhatikan dalam seleksi bahan eksplan. Apabila eksplan yang kurang steril diberi kesempatan dalam penanaman maka dimungkinkan mikroorganisme yang terbawa oleh eksplan tersebut akan tumbuh dengan cepat dan dalam waktu singkat akan menutupi permukaan medium pada eksplan yang ditanam atau yang biasanya disebut dengan kontaminasi.

Selanjutnya, mikroorganisme tersebut akan menyerang eksplan melalui luka-luka akibat pemotongan, disamping itu beberapa mikroorganisme melepaskan senyawa beracun ke dalam medium kultur yang dapat menyebabkan kematian jaringan. Oleh karena itu dalam inisiasi suatu kultur, harus diusahakan kultur yang aksenik, artinya kultur hanya dengan satu macam organisme yang diinginkan (dalam hal ini jaringan tanaman), (Zulkarnain, 2009).

kontaminasi yang sering terjadi pada kultur jaringan tanaman terdiri atas dua jenis yaitu kontaminasi oleh bakteri dan kontaminasi oleh cendawan. Untuk membedakan kedua jenis kontaminasi ini, dapat dilihat dari ciri-ciri fisik yang muncul pada eksplan maupun media kultur. Bila terkena kontaminasi bakteri (Gambar 4.1.A) maka tanaman akan basah atau menyebabkan adanya lendir, hal ini

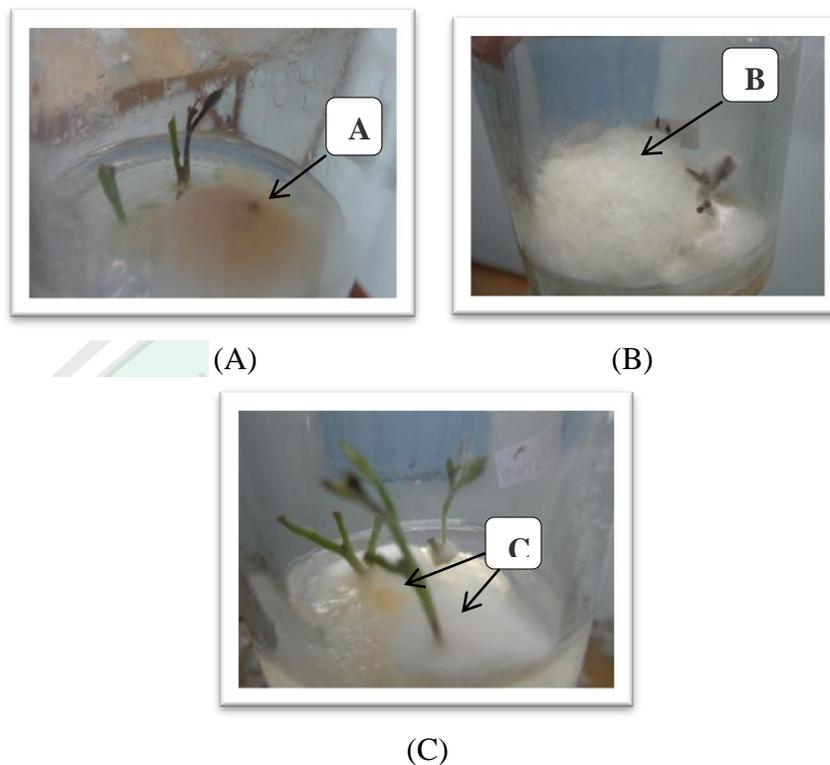
dikarenakan bakteri langsung menyerang terhadap jaringan dari tubuh tumbuhan itu sendiri. Sedangkan bila terkontaminasi oleh cendawan (Gambar 4.1.B), tanaman akan lebih kering dan akan muncul hifa jamur pada tanaman yang terserang dan biasanya dapat dicirikan dengan adanya garis-garis (seperti benang) yang berwarna putih sampai abu-abu. Dan bisa juga kondisi eksplan terkontaminasi oleh cendawan dan bakteri (Gambar 4.1.C).

Tabel 4.1 Persentase dan jenis kontaminasi terhadap lama perendaman

Perlakuan	Lama Perendaman (menit)					
	M1 (5)		M2 (7)		M3 (10)	
	Cendawan	Bakteri	Cendawan	Bakteri	Cendawan	Bakteri
N1H1	-	-	+	-	+	-
N1H2	+	-	+	-	-	-
N1H3	+	-	+	+	+	-
N1N4	+	-	+	-	-	-
N1H5	+	-	+	-	+	-
N2H1	-	-	-	-	+	-
N2H2	-	-	+	-	+	-
N2H3	-	-	+	+	+	-
N2H4	-	-	+	-	-	-
N2H5	-	-	+	-	-	-
N3H1	+	-	+	-	+	-
N3H2	+	-	+	+	+	+
N3H3	+	-	+	+	+	-
N3H4	+	-	+	-	-	-
N3H5	-	-	+	-	+	-
N4H1	+	-	-	+	+	-
N4H2	+	-	+	-	-	+
N4H3	+	-	+	+	+	+
N4H4	-	+	-	-	+	+
N4H5	+	-	+	-	+	-
Rata-Rata	11,25 (%)	0,41 (%)	12,91 (%)	3,75 (%)	16,67 (%)	4,16 (%)

Keterangan:

Perlakuan N1 (NaOCl 0,5%), N2 (NaOCl 1%), N3(NaOCl 2%), N4 (sterilisasi bertingkat(2%,1%,0,5%)) H1 (HgCl₂ 0 mg/l), H2 (HgCl₂ 0,05 mg/l), H3 (HgCl₂ 0,1 mg/l), H4 (HgCl₂ 0,15 mg/l), H5 (HgCl₂ 0,2 mg/l). Tanda (+) eksplan terkontaminasi, dan (-) eksplan tidak terkontaminasi



Gambar 4.1. Jenis kontaminasi eksplan (A) eksplan yang terkontam oleh bakteri, (B) eksplan yang terkontam cendawan, (C) eksplan yang terkontam oleh cendawan dan bakteri

Berdasarkan hasil tabel di atas menunjukkan bahwa persentase tingkat kontaminasi jenis cendawan pada kombinasi perlakuan dengan lama perendaman 5 menit, 7 menit, dan 10 menit lebih besar dari pada persentase tingkat kontaminasi jenis bakteri (Tabel 4.2).

Tabel 4.2 Persentase jenis kontaminan pada eksplan *Acacia mangium*

Jenis kontaminan	Persentase (%)
Bakteri	2,78
Cendawan	13,61
Bakteri + Cendawan	70,79

4.2 Persentase Tingkat Kematian Eksplan

4.2.1 Pengaruh Konsentrasi NaOCl dan Lama Perendaman selama 5 Menit, 7 Menit, dan 10 Menit Terhadap Persentase Tingkat Kematian Eksplan *Acacia mangium*

Berdasarkan hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa konsentrasi NaOCl berpengaruh terhadap persentase tingkat kematian tunas *Acacia mangium* dengan nilai signifikan ($p = 0,000$) pada lama perendaman 5 menit dan mempunyai nilai signifikan ($p = 0,000$) pada lama perendaman 10 menit terhadap persentase tingkat kematian eksplan tunas *Acacia mangium*, sehingga dilanjutkan dengan uji DMRT 5% (Tabel 4.1.1, Lampiran 3).

Tabel 4.1.1. Pengaruh konsentrasi NaOCl dan Lama Perendaman selama 5 Menit, 7 Menit, dan 10 Menit terhadap Persentase Tingkat Kematian Eksplan *Acacia mangium*

NaOCl (%)	Lama Perendaman (menit)		
	M1 (5)	M2 (7)	M3 (10)
N1 (0,5)	100 b	100 tn	66,67 a
N2 (1)	100 b	100 tn	63,33 a
N3 (2)	100 b	100 tn	50 a
N4 (2;1;0,5)	93,33 a	100 tn	100 b

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama dalam satu baris menunjukkan hasil tidak berbeda nyata sedangkan yang disertai huruf yang tidak sama menunjukkan hasil yang berbeda nyata, untuk huruf tn menunjukkan hasil tidak nyata berdasarkan hasil uji DMRT $\alpha: 0,05$.

Hasil uji DMRT $\alpha: 0,05$ pada tabel 4.1.1 menunjukkan bahwa persentase tingkat kematian eksplan *Acacia mangium* pada perlakuan N3 (NaOCl 2%) 10 menit tidak berbeda nyata dengan perlakuan N1 dan N2 (NaOCl 0,5% dan 1%) serta tidak

berbeda nyata dengan perlakuan N4 (sterilisasi bertingkat(2%,1%,0,5%)) 5 menit. Sedangkan persentase tingkat kematian tertinggi didapatkan pada perlakuan N4 (sterilisasi bertingkat(2%,1%,0,5%)) 10 menit dan perlakuan N1 (0,5%), N2 (1%), dan N3 (2%) 5 menit. Sehingga, perlakuan yang paling efektif untuk mengetahui tingkat terkecil kematian eksplan tunas *Acacia mangium* diperoleh pada perlakuan N3 (2%) 10 menit.

Penggunaan NaOCl dalam sterilisasi eksplan *Acacia mangium* merupakan salah satu cara yang efektif yang sering digunakan dalam sterilisasi eksplan dalam kultur jaringan tumbuhan, karena NaOCl merupakan satu dari beberapa senyawa disinfektan. Rismayani (2007), menyatakan bahwa NaOCl merupakan hasil reaksi antara molekul Chlorine, Sodium Hydroksida dan air. Hipoklorit adalah persenyawaan klorin yang pertama digunakan untuk proses delignifikasi (biasanya disebut hypro). Natrium hipoklorit dibuat dari klorin dan natrium hidroksida. Senyawa ini merupakan larutan yang sangat tidak stabil dan cenderung terurai yang meningkat dengan kenaikan konsentrasi dan temperatur serta berkurangnya sifat alkali. Larutan hipoklorit dapat terurai menjadi klorida dan oksigen dengan adanya ion-ion logam berat.

Larutan NaOCl jika dilarutkan dengan air, NaOCl akan terurai menjadi Na^+ dan OCl^- . Ion OCl^- akan tereduksi menjadi ion klorin dan ion hidroksida (Mughtaridi, 2007):



Biloks Cl dalam OCl^- adalah +1, sedangkan biloks Cl^- adalah -1. Berarti, Cl mengalami reduksi atau bertindak sebagai oksidator. Sifat oksidator inilah yang menyebabkan NaOCl dapat mengoksidasi noda atau kotoran pada eksplan dari lapang.

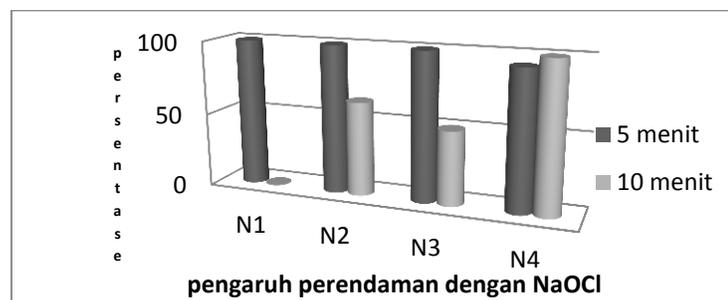
Sodium Hypochlorite (NaOCl) bertindak sebagai pelarut organik dan lemak yang akan memecahkan asam lemak, kemudian menukarnya menjadi garam asam lemak dan gleserol. Sodium Hypochlorite akan menetralkan asam amino untuk membentuk air dan garam. Dengan ini ion hydroxil akan dilepaskan dan menyebabkan pH menurun. Ion hydroxil yang dilepaskan akan bertindak terhadap protein membran sehingga protein membran mengalami denaturasi. Asam hypochlorous merupakan komponen yang terkandung dalam larutan sodium hypochlorite bertindak sebagai pelarut apabila berkontak dengan jaringan organik, dan akan membebaskan klorin. Klorin yang bergabung dengan kelompok protein amino akan membentuk chloramine. Klorin merupakan agen pengoksida yang kuat memberikan sifat antibakteri yang menghambat enzim-enzim bakteri dengan membentuk pengoksidasian enzim esensial bakteri (Estrela, 2002).

Dalam proses ini kondisi lama waktu sangat mempengaruhi dari kerjanya reaksi kimia tersebut, sehingga dalam hasil uji DMRT $\alpha: 0,05$ menunjukkan dalam waktu 10 menit perendaman tunas *Acacia mangium* memberikan pengaruh terhadap tingkat kontaminasi dibandingkan dengan perlakuan perendaman tunas *Acacia mangium* dalam waktu 7 menit atau tidak memberikan pengaruh. Akan tetapi dalam perlakuan N4 (NaOCl (2+1+0,5%)) dengan lama waktu perendaman 5 menit tunas

Acacia mangium juga memberikan pengaruh terhadap tingkat kontaminasi eksplan dengan tingkat keefektifannya 6,67 % dan tingkat kontaminasi tunas eksplan sebesar 93,33 % sedangkan pada perlakuan dengan pemberian NaOCl dalam waktu 7 menit mendapatkan hasil bahwa eksplan tunas *Acacia mangium* terkontam 100 %.

Hal ini dapat terjadi pada perlakuan N4 (sterilisasi bertingkat(2%,1%,0,5%)) dikarenakan pemberian perlakuan NaOCl yang cukup tinggi yaitu dengan konsentrasi NaOCl yang bertingkat pada eksplan (2%1%0,5%) (gambar 4.1.1). Rismayani (2010), menyatakan bahwa semakin sedikit konsentrasi NaClO maka eksplan semakin rentan terhadap patogen, namun apabila semakin tinggi konsentrasi NaClO maka perkembangan jaringan eksplan menjadi terhambat.

Selain dapat membasmi bakteri dan mikroorganisme seperti amoeba, ganggang, dan lain-lain. Klor yang dihasilkan dari gas klor NaOCl dapat mengoksidasi ion-ion logam seperti Fe^{2+} , Mn^{2+} , menjadi Fe^{3+} , Mn^{4+} , dan memecah molekul organik seperti warna. Selama proses tersebut, klor sendiri direduksi sampai menjadi klorida (Cl^-), disamping itu klor juga bereaksi dengan amoniak.



Gambar 4.2.1 Grafik pengaruh persentase tingkat kematian eksplan *Acacia mangium* pada perlakuan perendaman dengan NaOCl
Keterangan: Perlakuan N1 (NaOCl 0,5%), N2 (NaOCl 1%),
N3 (NaOCl 2%), N4 (sterilisasi bertingkat(2%,1%,0,5%)).

4.2.2 Pengaruh Konsentrasi HgCl₂ dan Lama Perendaman selama 5 Menit, 7 Menit, dan 10 Menit Terhadap Persentase Kematian Eksplan *Acacia mangium*

Berdasarkan hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa konsentrasi HgCl₂ berpengaruh terhadap persentase kematian eksplan *Acacia mangium* dengan nilai signifikan ($p = 0,000$) pada lama perendaman 10 menit terhadap eksplan tunas *Acacia mangium*, sehingga dilanjutkan dengan uji DMRT 5 % (Tabel 4.1.2, Lampiran 3).

Tabel 4.1.2 Pengaruh konsentrasi HgCl₂ dan Lama Perendaman selama 5 Menit, 7 Menit, dan 10 Menit terhadap persentase kematian eksplan *Acacia mangium*

HgCl ₂ (mg/l)	Lama Perendaman (menit)		
	M1 (5)	M2 (7)	M1 (10)
H1 (0)	100 tn	100 tn	100 d
H2 (0,05)	100 tn	100 tn	91,67 cd
H3 (0,1)	100 tn	100 tn	75 bc
H4 (0,15)	100 tn	100 tn	29,17 a
H5 (0,2)	100 tn	100 tn	54,17 b

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama dalam satu baris menunjukkan hasil tidak berbeda nyata sedangkan yang disertai huruf yang tidak sama menunjukkan hasil yang berbeda nyata, untuk huruf tn menunjukkan hasil tidak nyata berdasarkan hasil uji DMRT α : 0,05.

Hasil uji DMRT α : 0,05 pada tabel 4.1.2 menunjukkan bahwa persentase kematian eksplan *Acacia mangium* pada perlakuan H4 (HgCl₂ 0,15 mg/l) 10 menit beda nyata dengan perlakuan H1(0 mg/l), H2(0,05), H3 (1 mg/l), dan H5 (2 mg/l). Perlakuan H5 (2 mg/l) tidak berbeda nyata dengan perlakuan H3 (1 mg/l). Perlakuan H3 (1 mg/l) tidak berbeda nyata dengan H2 (0,05 mg/l). Dan perlakuan H2 (0,05 mg/l) tidak berbeda nyata dengan H1(0 mg/l).

Dari ketiga macam waktu lama perendaman eksplan didapatkan penggunaan HgCl_2 dalam waktu lama perendaman 10 menit sebagai lama waktu sterilisasi eksplan yang efektif dibandingkan dengan lama waktu perendaman selama 5 menit dan 7 menit tidak didapatkan respon. Pada perlakuan perendaman eksplan selama 10 menit hampir pada semua konsentrasi HgCl_2 memberikan pengaruh dalam tingkat kematian eksplan. Hasil tingkat kematian eksplan terendah pada konsentrasi HgCl_2 ini yaitu pada perlakuan H4 (HgCl_2 1,5 mg/l) sebesar 29,17%. Dan pada perlakuan H1 (HgCl_2 0 mg/l) menghasilkan rata-rata persentase eksplan mati sebesar 100% (Grafik 4.2.2).

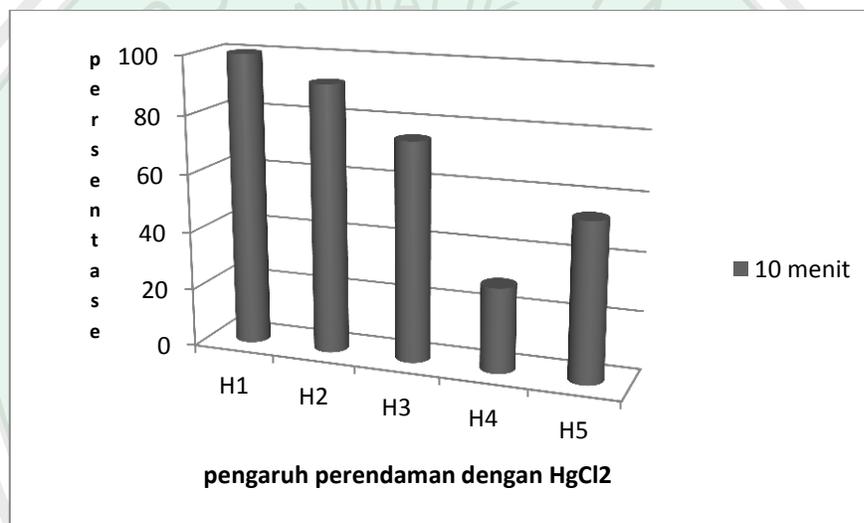
Dari hasil persentase tingkat kematian eksplan terendah (sebesar 29,17%) pada perlakuan H4 (HgCl_2 1,5 mg/l) tersebut menunjukkan bahwa penggunaan HgCl_2 lebih efektif jika dibandingkan dengan NaOCl yang mempunyai tingkat kematian terendah sebesar 50 % dengan perlakuan N3 (NaOCl 2%). Walaupun penggunaan bahan sterilisasi eksplan kadangkala memberikan respon yang berbeda untuk masing-masing spesies tumbuhan tetapi kadangkala penggunaan HgCl_2 memang lebih efektif jika dibandingkan dengan NaClO (Maina *et al.*, 2010).

Hal ini karena juga karena garam merkuri (HgCl_2) merupakan bentuk kimia merkuri yang mempunyai pengaruh terhadap pengendapannya. HgCl_2 sangat larut dalam air dan sangat toksik, sebaliknya HgCl tidak larut dan tidak toksik. Hal ini disebabkan karena bentuk divalen lebih mudah larut dari pada bentuk monovalen. Disamping itu, bentuk HgCl_2 juga cepat dan mudah diabsorpsi sehingga daya toksisitasnya lebih tinggi (Alfian, 2006).

Bentuk dari HgCl_2 berupa padatan atau kristal yang bereaksi ionik (H^+ dihidrasi dalam air) secara kimia HgCl_2 yaitu:



Dari respon di atas disebabkan oleh adanya aksi dua ion klorida yang berikatan erat dengan protein mikroorganisme penyebab kontaminasi yang akhirnya dapat menyebabkan kematian organisme tersebut (Pauling, 1955).



Gambar 4.2.2 Grafik pengaruh persentase tingkat kematian eksplan *Acacia mangium* pada perlakuan perendaman dengan HgCl_2
 Keterangan: Perlakuan H1 (HgCl_2 0 mg/l), H2 (HgCl_2 0,05 mg/l), H3 (HgCl_2 0,1 mg/l), H4 (HgCl_2 0,15 mg/l), dan H5 (HgCl_2 0,2 mg/l).

4.2.3 Pengaruh Kombinasi Antara NaOCl dan HgCl_2 dengan Lama Perendaman selama 5 Menit, 7 Menit, dan 10 Menit Terhadap Persentase Tingkat Kematian Eksplan *Acacia mangium*

Berdasarkan hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa kombinasi antara NaOCl dan HgCl_2 berpengaruh terhadap persentase tingkat kematian eksplan *Acacia*

mangium dengan nilai signifikan ($p = 0,000$) pada lama perendaman 10 menit terhadap eksplan *Acacia mangium*, sehingga dilanjutkan dengan uji DMRT 5 % (Tabel 4.1.3, Lampiran 3).

Tabel 4.1.3 Pengaruh kombinasi antara NaOCl dan HgCl₂ dengan Lama Perendaman selama 5 Menit, 7 Menit, dan 10 Menit terhadap persentase kematian eksplan *Acacia mangium*

Perlakuan kombinasi	Lama Perendaman (menit)		
	M1 (5 menit)	M2 (7 menit)	M1 (10 menit)
N1H1	100 tn	100 tn	100 c
N1H2	100 tn	100 tn	83,33 c
N1H3	100 tn	100 tn	66,67 bc
N1H4	100 tn	100 tn	0 a
N1H5	100 tn	100 tn	88,33 c
N2H1	100 tn	100 tn	100 c
N2H2	100 tn	100 tn	100 c
N2H3	100 tn	100 tn	100 c
N2H4	100 tn	100 tn	16,67 a
N2H5	100 tn	100 tn	0 a
N3H1	100 tn	100 tn	100 c
N3H2	100 tn	100 tn	83,33 c
N3H3	100 tn	100 tn	33,3 ab
N3H4	100 tn	100 tn	0 a
N3H5	100 tn	100 tn	33,3 ab
N4H1	100 tn	100 tn	100 c
N4H2	100 tn	100 tn	100 c
N4H3	100 tn	100 tn	100 c
N4H4	100 tn	100 tn	100 c
N4H5	100 tn	100 tn	100 c

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama dalam satu baris menunjukkan hasil tidak berbeda nyata sedangkan yang disertai huruf yang tidak sama menunjukkan hasil yang berbeda nyata, untuk huruf tn menunjukkan hasil tidak nyata berdasarkan hasil uji DMRT $\alpha: 0,05$.

Perlakuan N1 (NaOCl 0,5%), N2 (NaOCl 1%), N3(NaOCl 2%), N4 (NaOCl (sterilisasi bertingkat(2%,1%,0,5%))). H1 (HgCl₂ 0 mg/l), H2 (HgCl₂ 0,05 mg/l), H3 (HgCl₂ 0,1 mg/l), H4 (HgCl₂ 0,15 mg/l), H5 (HgCl₂ 0,2 mg/l).

Hasil uji DMRT α : 0,05 pada tabel 4.1.3 menunjukkan bahwa persentase kematian eksplan *Acacia mangium* pada perlakuan kombinasi N1H4, N2H4, N2H5, N3H4, tidak berbeda nyata dengan perlakuan N3H5 N3H3. Pada perlakuan N3H5 dan N3H3 tidak berbeda nyata dengan N1H3. Perlakuan N1H3 tidak berbeda nyata dengan N1H1, N1H2, N1H5, N2H1, N2H2, N2H3, N3H1, N3H2, N4H1, N4H2, N4H3, N4H4, dan N4H5.

Persentase kematian terendah pada kombinasi perlakuan NaOCl dan HgCl₂ yaitu pada perlakuan N1H4, N2H5, dan N3H4 mempunyai persentase tingkat kematian 0,00% hal ini menunjukkan bahwa pada perlakuan kombinasi tersebut tidak terjadi kematian. Sehingga perlakuan kombinasi N1H4 pada lama perendaman eksplan selama 10 menit yang dimungkinkan paling efektif dalam meminimalisir tingkat kematian eksplan tunas *Acacia mangium*. Hal ini dipilih karena tingkat konsentrasi bahan sterilan yang paling rendah. Sedangkan pada kombinasi perlakuan N1H1, N1H2, N1H5, N2H1, N2H2, N2H3, N3H1, N3H2, N4H1, N4H2, N4H3, N4H4, dan N4H5 dengan rata-rata tingkat kematian tertinggi yaitu 100 %.

Lama waktu perendaman eksplan juga mempengaruhi terhadap keberlangsungan kehidupan pada eksplan, dan dapat pula menyebabkan kematian pada eksplan. Hal ini tergantung pada perlakuan awal sterilisasi eksplan yang menggunakan berbagai macam bahan sterilisasi yang berkadar keras dapat memicu mematikan eksplan, sedangkan eksplan yang terlalu lama dalam proses sterilisasinya atau dalam perlakuan perendaman juga dapat memicu kematian pada eksplan yang

akan diinisiasikan (Zulkarnain, 2009). Untuk menghindari itu diperlukan lama perendaman eksplan yang tepat dan efisien.

Larutan NaOCl atau lebih sering disebut dengan larutan pemutih dapat dibuat dengan mereaksikan NaOH dengan gas klor (Cl_2). Kombinasi perendaman eksplan ini menggunakan larutan NaOCl dan HgCl_2 dengan lama waktu perendaman 5 menit, 7 menit, dan 10 menit. Zat pemutih atau NaOCl ini bekerja dengan dua cara, yaitu yang pertama dengan mengubah molekul menjadi zat yang tidak mengandung kromofor atau masih mengandung kromofor yang tidak menyerap cahaya visible dengan cara memutuskan ikatan kimia kromofor oleh pemutih yang bersifat oksidator. Dan yang kedua mengubah ikatan rangkap pada kromofor menjadi ikatan tunggal oleh pemutih yang bersifat reduktor.

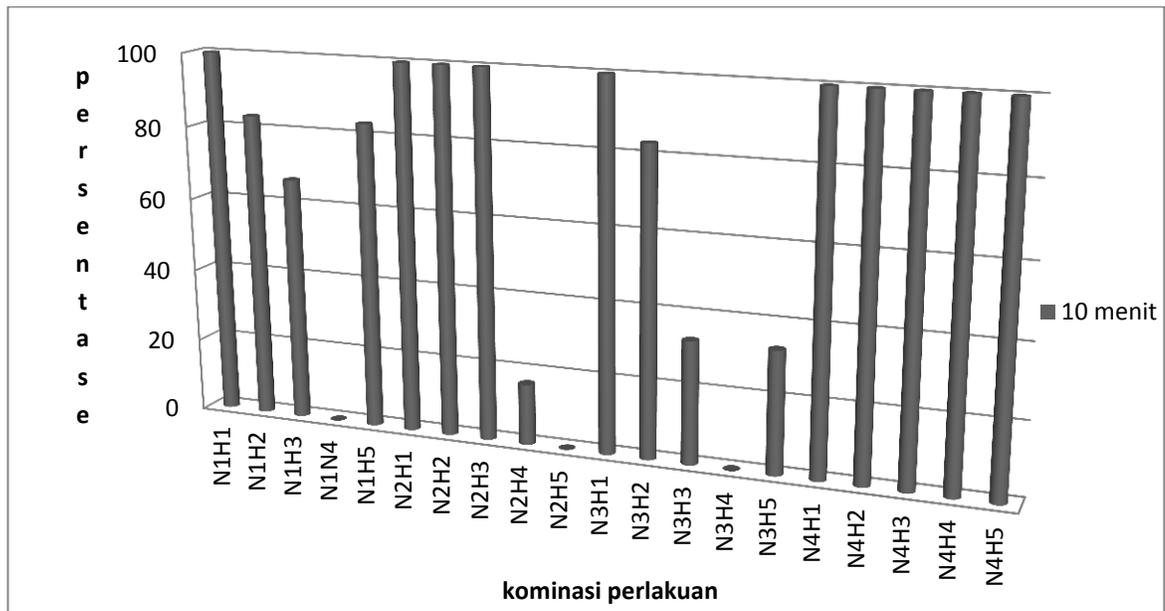
Sedangkan sifat senyawa HgCl_2 sangat larut dalam air dan sangat toksik, sebaliknya HgCl tidak larut dan tidak toksik. Hal ini disebabkan karena bentuk divalen lebih mudah larut dari pada bentuk monovalen. Disamping itu, bentuk HgCl_2 juga cepat dan mudah diabsorpsi sehingga daya toksitasnya lebih tinggi (Alfian, 2006). Merkuri dan turunannya mempunyai sifat yang sangat beracun, sehingga dalam penggunaan bahan ini harus berhati-hati.

Apabila perlakuan perendaman eksplan tidak tepat dapat memberikan kesempatan pada mikroorganisme yang terangkut eksplan dapat tumbuh dengan cepat dan dalam waktu singkat akan menutupi permukaan medium serta eksplan yang ditanam. Selanjutnya, mikroorganisme tersebut akan menyerang eksplan melalui luka-luka akibat pemotongan dan penanganan pada saat sterilisasi sehingga

mengakibatkan kematian eksplan. Disamping itu, beberapa mikroorganisme melepaskan senyawa beracun ke dalam medium kultur yang dapat menyebabkan kematian jaringan. Menurut Zulkarnain (2009) bahwa dalam perlakuan perendaman dalam inisiasi suatu kultur, harus diusahakan kultur yang aksenik, artinya kultur hanya dengan satu macam organisme yang diinginkan (dalam hal ini jaringan tanaman).

Penggunaan kombinasi perlakuan pemberian NaOCl dan HgCl₂ dengan lama perendaman selama 10 menit telah memberikan pengaruh yang lebih baik dalam tingkat kematian eksplan dibandingkan dengan lama perendaman selama 5 menit dan 7 menit. Diantaranya pada perlakuan kombinasi N1H4, N2H5, dan N3H4 pada waktu 10 menit (Grafik 4.2.3) memberikan respon terbaik terhadap tingkat kematian eksplan *Acacia mangium*. Pada kombinasi perlakuan tersebut didapatkan dengan hasil 0,00 % terkontam atau eksplan tidak mengalami kematian eksplan.

Hal ini berkaitan dengan mekanisme kerja NaClO pada perlakuan N1, N2, dan N3 dengan kombinasi HgCl₂ pada perlakuan H4 dan H5 dalam waktu perendaman eksplan selama 10 menit yang menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut bahan sterilan terbukti memberikan pengaruh yang sinergis terhadap rendahnya tingkat kematian eksplan.



Gambar 4.2.3 Grafik pengaruh persentase tingkat kematian eksplan *Acacia mangium* pada perlakuan perendaman kombinasi antara NaOCl dengan HgCl₂
 Keterangan : Perlakuan N1 (NaOCl 0,5%), N2 (NaOCl 1%), N3(NaOCl 2%), N4 (NaOCl (sterilisasi bertingkat(2%,1%,0,5%)). H1 (HgCl₂ 0 mg/l), H2 (HgCl₂ 0,05 mg/l), H3 (HgCl₂ 0,1 mg/l), H4 (HgCl₂ 0,15 mg/l), H5 (HgCl₂ 0,2 mg/l).

4.3 Persentase Tingkat Browning

Dalam kultur jaringan selain kendala kematian akibat terkontaminasi yang menjadi pokok permasalahan, persentase browning juga sering terjadi dalam eksplan yang umumnya berkayu, karena didalam eksplan yang berkayu mempunyai kandungan fenol yang dapat menyebabkan eksplan yang akan kita kulturkan menjadi berwarna coklat dan akhirnya mati.

Browning (pencoklatan) merupakan gejala munculnya warna coklat pada eksplan sehingga akan menghambat pertumbuhan eksplan. Queiroz *et al* (2008) mengemukakan bahwa *browning* terjadi akibat adanya enzim polifenol oksidase yang mengakibatkan terjadinya oksidasi senyawa fenol menjadi quinon yang memproduksi

pigmen berwarna coklat ketika jaringan terluka. Dalam penelitian ini tingkat browning yang terjadi pada tunas eksplan *Acacia mangium* sebesar 7,22 %.



Gambar 4.3.(A) Eksplan yang browning (pencoklatan)

4.3.1 Pengaruh Konsentrasi NaOCl dan Lama Perendaman selama 5 Menit, 7 Menit, dan 10 Menit Terhadap Persentase Tingkat Browning Eksplan *Acacia mangium*

Berdasarkan hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa konsentrasi NaOCl berpengaruh terhadap persentase tingkat browning eksplan *Acacia mangium* dengan nilai ($p= 0,000$) pada lama perendaman 10 menit sehingga hasil uji dilanjutkan ke uji DMRT $\alpha: 0,05$ (tabel 4.2.1, lampiran 4).

Tabel 4.2.1 Pengaruh Konsentrasi NaOCl dan Lama Perendaman selama 5 Menit, 7 Menit, dan 10 Menit terhadap persentase tingkat browning

NaOCl (%)	Lama Perendaman (menit)		
	M1 (5)	M2 (7)	M3 (10)
N1 (0,5)	100 tn	100 tn	0,00 a
N2 (1)	100 tn	100 tn	33,33 b
N3 (2)	100 tn	100 tn	50,00 b
N4 (2 +1+0,5)	100 tn	100 tn	0,00 a

Keterangan:Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama dalam satu baris menunjukkan hasil tidak berbeda nyata sedangkan yang disertai huruf yang tidak sama menunjukkan hasil yang berbeda nyata, untuk huruf tn menunjukkan hasil tidak nyata berdasarkan hasil uji DMRT $\alpha: 0,05$.

Hasil uji DMRT α : 0,05 pada tabel menunjukkan bahwa persentase browning pada eksplan *Acacia mangium* dengan perlakuan N1 (NaOCl 0,5%) dalam lama waktu perendaman 10 menit tidak berbeda nyata dengan perlakuan N4 (NaOCl (sterilisasi bertingkat(2%,1%,0,5%)) dengan tingkat browning 0,00 % atau tidak terjadi browning. Sedangkan pada perlakuan N2 (NaOCl 1%) dalam lama waktu 10 menit memberikan hasil tidak berbeda nyata dengan N3 (NaOCl 2%). Dan hasil tingkat browning tertinggi terdapat pada perlakuan N3 (NaOCl 2%) dengan tingkat browning sebesar 50 %.

Persentase browning pada perlakuan NaOCl mempunyai tingkat browning terkecil 0% yaitu pada perlakuan N1 dan N4. Sedangkan pada perlakuan N3 tingkat browning memberikan pengaruh sebesar 50 %. Hal ini dapat terjadi dimungkinkan tanaman tidak mengalami browning melainkan tanaman sudah mengalami kematian eksplan karena dosis konsentrasi yang terlalu tinggi pada perlakuan N4. Karena *Acacia mangium* termasuk golongan tanaman berkayu. Menurut Diana (2013), bahwa tanaman *Acacia mangium* memiliki kandungan metabolit sekunder yang cukup tinggi, terdapat pada tiap bagian tubuhnya. Metabolit sekunder yang dihasilkan dari kelompok fenolik ini dapat memicu terjadinya persentase browning pada eksplan *Acacia mangium*. Senyawa fenol ini mengalami oksidasi akibat adanya perlakuan terhadap eksplan. Senyawa fenol yang teroksidasi pada media mengakibatkan eksplan tidak dapat mengambil nutrisi dari media sehingga pertumbuhan eksplan terhambat dan akhirnya eksplan akan mati.

Kavitha (2009) menyatakan bahwa senyawa fenol yang muncul pada eksplan akan bersifat toksik bagi sel apabila dalam konsentrasi berlebihan, yang akan menghambat pertumbuhannya. Produksi senyawa fenol yang terbatas pada eksplan ataupun kalus masih dapat ditolerasi oleh eksplan, sehingga kultur masih dapat tumbuh. Namun, apabila senyawa fenol sudah menyebabkan pencoklatan pada media tanam, hal ini dapat menghambat pertumbuhan eksplan yang mengakibatkan kematian kultur.

Usaha untuk mengurangi persentase *browning* dalam penelitian ini diantaranya ialah penggunaan bahan tanaman yang masih muda. Tanaman muda mempunyai kandungan fenol yang lebih rendah dibandingkan dengan tanaman tua. Kandungan fenol yang lebih rendah akan menurunkan tingkat *browning* yang terjadi. Peristiwa pencoklatan pada eksplan saat ditanam dapat dikurangi dengan melakukan pembilasan air secara berulang. Hal ini dilakukan untuk melarutkan senyawa fenol yang ada dalam jaringan tanaman. Hartman (1990), menyatakan bahwa jaringan-jaringan yang sedang aktif tumbuh pada awal masa pertumbuhan biasanya merupakan bahan eksplan yang paling baik. Jaringan yang kurang aktif sering menginginkan modifikasi jenis dan takaran zat pengatur tumbuh selama pengkulturan. Oleh karena itu, Pierik (1997) menyarankan untuk menggunakan jaringan-jaringan yang mudah dan lunak karena pada umumnya jaringan tersebut lebih mudah berpoliferasi dari pada jaringan berkayu atau yang sudah tua.

4.3.2 Pengaruh Konsentrasi HgCl₂ dan Lama Perendaman selama 5 Menit, 7 Menit, dan 10 Menit Terhadap Persentase Tingkat Browning Eksplan *Acacia mangium*

Berdasarkan hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa konsentrasi HgCl₂ berpengaruh terhadap persentase tingkat browning tunas *Acacia mangium* dengan nilai signifikan ($p = 0,000$) pada lama perendaman 10 menit sehingga hasil uji dilanjutkan ke uji DMRT $\alpha: 0,05$ (tabel 4.1.2, lampiran 4).

Tabel 4.2.2 pengaruh HgCl₂ dan Lama Perendaman selama 5 Menit, 7 Menit, dan 10 Menit terhadap persentase tingkat browning

HgCl ₂ (mg/l)	Lama Perendaman (menit)		
	M1 (5 menit)	M2 (7 menit)	M1 (10 menit)
H1 (0)	100 tn	100 tn	0,00 a
H2 (0,05)	100 tn	100 tn	4,17 a
H3 (0,1)	100 tn	100 tn	16,67 a
H4 (0,15)	100 tn	100 tn	41,67 b
H5 (0,2)	100 tn	100 tn	41,67 b

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama dalam satu baris menunjukkan hasil tidak berbeda nyata sedangkan yang disertai huruf yang tidak sama menunjukkan hasil yang berbeda nyata, untuk tanda tn menunjukkan hasil yang tidak nyata berdasarkan hasil uji DMRT $\alpha: 0,05$.

Hasil uji DMRT $\alpha: 0,05$ pada tabel 4.1.1 menunjukkan bahwa persentase browning eksplan tunas *Acacia mangium* pada perlakuan H1 (HgCl₂ 0 mg/l) pada 10 menit tidak beda nyata dengan H2 dan H3. Sedangkan pada perlakuan H4 tidak berbeda nyata dengan H5. Persentase browning tertinggi terdapat pada perlakuan H4 dan H5. Sedangkan untuk mendapatkan persentase browning yang paling efektif dengan penggunaan HgCl₂ adalah dengan perlakuan H1.

Berdasarkan hasil pada tabel 4.1.1 untuk persentase kontaminasi eksplan tunas *Acacia mangium* menunjukkan bahwa dengan perlakuan H1 (HgCl_2 0 mg/l) pada lama perendaman 10 menit mempunyai persentase kontaminasi 0%. Sedangkan dengan penambahan persentase konsentrasi bahan perlakuan HgCl_2 , maka persentase kontaminasi eksplan tunas *Acacia mangium* semakin tinggi pula. Hal ini sama dengan perlakuan pada NaOCl, bahwa pada perlakuan N1 (NaOCl 0,5 %) persentase browning 0 % dan pada peningkatan dosis NaOCl persentase browning juga meningkat.

Perbedaan antara perlakuan HgCl_2 dengan perlakuan NaOCl yaitu pada perlakuan HgCl_2 persentase tingkat browning lebih kecil dari pada persentase tingkat browning pada perlakuan NaOCl. Pada perlakuan HgCl_2 dengan konsentrasi H5 (0,2 mg/l) persentase browning 41,67 %, sedangkan pada perlakuan NaOCl dengan konsentrasi N3 (2%) persentase browning 50%. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan dengan NaOCl lebih tinggi dan pengaruh NaOCl lebih keras terhadap persentase browning atau kematian eksplan *Acacia mangium*.

Zulfiqar (2009), bahwa konsentrasi NaOCl yang tepat dapat efektif dalam mengontrol kontaminasi dengan sedikit kerusakan pada eksplan. NaOCl merupakan bahan sterilisasi yang sangat efektif dalam mengontrol tingkat kontaminasi, tetapi konsentrasi NaOCl yang dinaikkan akan secara drastis menaikkan pula persen kematian eksplan, karena NaOCl dalam konsentrasi tinggi bersifat toksik bagi tanaman.

4.3.3 Pengaruh Kombinasi Antara NaOCl dan HgCl₂ dengan Lama Perendaman selama 5 Menit, 7 Menit, dan 10 Menit Terhadap Persentase Tingkat Browning Eksplan *Acacia mangium*

Tabel 4.2.3 Pengaruh kombinasi antara NaOCl dan HgCl₂ dengan Lama Perendaman selama 5 Menit, 7 Menit, dan 10 Menit terhadap persentase tingkat browning

Perlakuan kombinasi	Lama Perendaman (menit)		
	M1 (5 menit)	(M2 (7 menit)	M1 (10 menit)
N1H1	100 tn	100 tn	0,00 a
N1H2	100 tn	100 tn	0,00 a
N1H3	100 tn	100 tn	0,00 a
N1N4	100 tn	100 tn	0,00 a
N1H5	100 tn	100 tn	0,00 a
N2H1	100 tn	100 tn	0,00 a
N2H2	100 tn	100 tn	0,00 a
N2H3	100 tn	100 tn	0,00 a
N2H4	100 tn	100 tn	66,67 b
N2H5	100 tn	100 tn	100 b
N3H1	100 tn	100 tn	0,00 a
N3H2	100 tn	100 tn	16,67 a
N3H3	100 tn	100 tn	66,67 b
N3H4	100 tn	100 tn	100 b
N3H5	100 tn	100 tn	66,67 b
N4H1	100 tn	100 tn	0,00 a
N4H2	100 tn	100 tn	0,00 a
N4H3	100 tn	100 tn	0,00 a
N4H4	100 tn	100 tn	0,00 a
N4H5	100 tn	100 tn	0,00 a

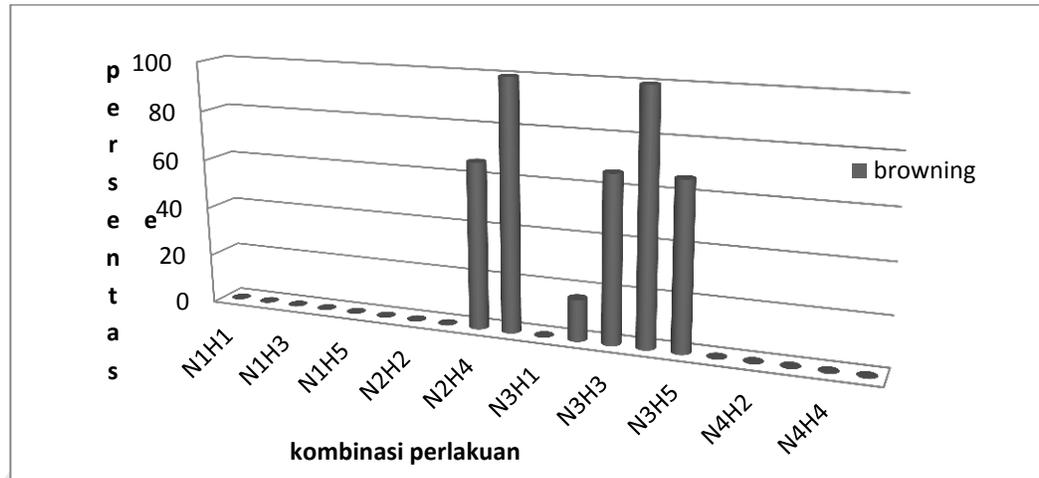
Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama dalam satu baris menunjukkan hasil tidak berbeda nyata sedangkan yang disertai huruf yang tidak sama menunjukkan hasil yang berbeda nyata, untuk huruf tn menunjukkan hasil tidak nyata berdasarkan hasil uji DMRT α : 0,05. Perlakuan N1 (NaOCl 0,5%), N2 (NaOCl 1%), N3(NaOCl 2%), N4 (NaOCl (sterilisasi bertingkat(2%,1%,0,5%))). H1 (HgCl₂ 0 mg/l), H2 (HgCl₂ 0,05 mg/l), H3 (HgCl₂ 0,1 mg/l), H4 (HgCl₂ 0,15 mg/l), H5 (HgCl₂ 0,2 mg/l).

Berdasarkan hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa perlakuan kombinasi antara NaOCl dan HgCl₂ berpengaruh terhadap persentase tingkat browning tunas

Acacia mangium dengan nilai signifikan ($p = 0,000$) pada lama perendaman 10 menit sehingga hasil uji dilanjutkan ke uji DMRT $\alpha: 0,05$ (tabel 4.1.3, lampiran 4).

Hasil uji DMRT $\alpha: 0,05$ pada tabel 4.1.3 menunjukkan bahwa persentase tingkat browning eksplan *Acacia mangium* pada perlakuan kombinasi perlakuan NaOCl dan HgCl₂ dengan persentase browning pada perlakuan kombinasi N1H1 tidak berbeda nyata dengan perlakuan kombinasi N1H2, N1H3, N1N4, N1H5, N2H1, N2H2, N2H3, N3H1, N3H2, N4H1, N4H2, N4H3, N4H4, dan N4H5. Sedangkan pada kombinasi perlakuan pada N3H2 tidak berbeda nyata dengan kombinasi perlakuan N2H4, N2H5, N3H3, N3H4, dan N3H5. Tingkat browning tertinggi terdapat pada kombinasi perlakuan N2H5 dan N3H4. Sedangkan tingkat browning terendah atau yang dimungkinkan dilakukan efektivitas sterilisasi dalam mencegah tingkat browning adalah kombinasi perlakuan N1H1 dengan konsentrasi NaOCl 0,5 % dan konsentrasi HgCl₂ 0 mg/l.

Kombinasi yang dimungkinkan dalam sterilisasi eksplan *Acacia mangium* untuk meminimalisir atau mengurangi persentase tingkat browning yang akan dikulturkan diantaranya yaitu konsentrasi NaOCl yang terkecil dan konsentrasi HgCl₂ yang terkecil (gambar 4.3.3), karena dengan kombinasi perlakuan tersebut dapat meminimalisir persentase browning.



Gambar 4.3.3 Grafik persentase tingkat browning pada eksplan *Acacia mangium*

Keterangan: Perlakuan N1 (NaOCl 0,5%), N2 (NaOCl 1%), N3(NaOCl 2 %), N4 (NaOCl (2+1+0,5)%). H1 (HgCl₂ 0 mg/l), H2 (HgCl₂ 0,05 mg/l), H3 (HgCl₂ 0,1 mg/l), H4 (HgCl₂ 0,15 mg/l), H5 (HgCl₂ 0,2 mg/l).

Dari gambar grafik diatas kemungkinan kombinasi perlakuan yang terbaik dalam meminimalisir tingkat persentase browning pada perlakuan N1H1 seperti yang telah dijelaskan dalam pengaruh NaOCl dan HgCl₂ dalam waktu lama perendaman 10 menit. Karena dengan konsentrasi NaOCl yang kecil dan tepat dapat dipergunakan untuk sterilisasi. Zulfiqar (2009), bahwa konsentrasi NaOCl yang tepat dapat efektif dalam mengontrol kontaminasi dengan sedikit kerusakan pada eksplan. NaOCl merupakan bahan sterilisasi yang sangat efektif dalam mengontrol tingkat kontaminasi, tetapi konsentrasi NaOCl yang dinaikkan akan secara drastis menaikkan pula persen kematian eksplan, karena NaOCl dalam konsentrasi tinggi bersifat toksik bagi tanaman.

Sedangkan kombinasi dengan HgCl_2 juga mempengaruhi pada kondisi eksplan karena HgCl_2 dalam persentase browning juga berpengaruh untuk mematikan eksplan. Alfian (2006), menyatakan bahwa garam merkuri (HgCl_2) merupakan bentuk kimia merkuri yang mempunyai pengaruh terhadap pengendapannya. HgCl_2 sangat larut dalam air dan sangat toksik, sebaliknya HgCl tidak larut dan tidak toksik. Hal ini disebabkan karena bentuk divalen lebih mudah larut dari pada bentuk monovalen. Disamping itu, bentuk HgCl_2 juga cepat dan mudah diabsorpsi sehingga daya toksitasnya lebih tinggi.

4.4 Integrasi Al-Qur'an dan Ilmu Biologi

4.4.1. Anjuran untuk Menjaga Alam dan Lingkungan

Manusia sebagai makhluk yang sempurna karena diberikan akal oleh Allah Subhanahu Wata'ala hendaknya bisa lebih peka dalam memperhatikan lingkungan sekitar. Kondisi lingkungan yang semakin memprihatinkan diantaranya terjadinya penggundulan hutan tanpa reboisasi. Hal ini terjadi karena sifat penanaman membutuhkan waktu yang cukup lama (± 10 tahun) untuk dapat memanen kembali pohon tersebut dan kurangnya kesadaran untuk mencintai alam yang dapat mengakibatkan terjadinya bencana longsor dan banjir. Hal ini telah dijelaskan dalam Al-Qur'an surat Ar-ruum ayat 41:

ظَهَرَ الْفَسَادُ فِي الْبَرِّ وَالْبَحْرِ بِمَا كَسَبَتْ أَيْدِي النَّاسِ لِيُذِيقَهُمْ بَعْضَ الَّذِي عَمِلُوا لَعَلَّهُمْ

يَرْجِعُونَ ﴿٤١﴾

Artinya: *Telah nampak kerusakan di darat dan di laut disebabkan Karena perbuatan tangan manusia, supaya Allah merasakan kepada mereka sebahagian dari (akibat) perbuatan mereka, agar mereka kembali (ke jalan yang benar).*

Menurut Abdullah (2003), dalam tafsir Ibnu Katsir bahwa pendapat yang menjadi pegangan kebanyakan ahli tafsir makna firman Allah (*ظَهَرَ الْفَسَادُ فِي الْبَرِّ وَالْبَحْرِ*) (بِمَا كَسَبَتْ أَيْدِي النَّاسِ) “*Telah nampak kerusakan di darat dan di laut disebabkan Karena perbuatan tangan manusia*”, yaitu kekurangan tanaman dan buah-buahan disebabkan oleh kemaksiatan. Abul ‘Aliyah berkata: “ barangsiapa yang berlaku maksiat kepada Allah di muka bumi, maka berarti dia telah berbuat kerusakan di dalamnya. Karena kebaikan bumi dan langit adalah dengan sebab ketaatan.

Sebagai hamba Allah yang beriman sudah menjadi kewajiban kita untuk selalu mengingat dan mensucikan Asma Allah dengan cara mempelajari ilmu-ilmuNya. Anjuran dalam mengingat Asma Allah Subhahu Wata’ala telah disebutkan dalam Al-Qur’an Surat Ali ‘imran ayat 190:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ ﴿١٩٠﴾

Artinya:

Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal.

Menurut Abdullah (2003) dalam tafsir Ibnu Katsir bahwa Allah menyifatkan tentang Ulul Albab, dalam firmanNya yang artinya “(yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring”. Maksudnya, mereka tidak putus-putus berdzikir dalam semua keadaan, baik dengan hati maupun dengan

lisan mereka. Dan dilanjutkan dengan kalimat “*dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi*”. Maksudnya, mereka memahami apa yang terdapat pada keduanya (langit dan bumi) dari kandungan hikmah yang menunjukkan keagungan “Al-Khaliq”(Allah), kekuasaanNya, keluasan ilmuNya, pilihanNya, juga rahmatNya.

Dan di sisi lain Allah Ta’ala memuji hambaNya yang beriman, (*yaitu orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi*). Yang mana mereka berkata, “Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan Ini dengan sia-sia”. Artinya, Engkau tidak menciptakan semuanya ini dengan sia-sia, tetapi dengan penuh kebenaran, agar Engkau memberikan balasan kepada orang-orang yang beramal buruk terhadap apa-apa yang telah mereka kerjakan dan juga memberikan balasan orang-orang yang beramal baik dengan balasan yang lebih baik (surga). Kemudian mereka mensucikan Allah dari perbuatan sia-sia dan penciptaan yang bathil seraya berkata “*Mahasuci Engkau*”. Yakni dari menciptakan sesuatu yang sia-sia “*maka periharalah kami dari siksa Neraka*”. Maksudnya, wahai rabb yang menciptakan makhluk ini dengan sungguh-sungguh dan adil. Wahai Dzat yang jauh dari kekurangan, aib dan kesia-siaan, periharalah kami dari siksa api Neraka dengan daya dan kekuatanMu. Dan berilah taufik kepada kami dalam menjalankan amal shalih yang dapat mengantarkan kami ke surga serta menyelamatkan kami dari adzabMu yang sangat pedih.

Oleh sebab itu penelitian ini bertujuan untuk memberikan pengetahuan dan informasi kepada masyarakat secara umum bagaimana cara untuk memperbanyak

tanaman (khususnya tanaman *Acacia mangium*) dengan cara kultur jaringan yang didukung oleh metode efektifitas bahan HgCl₂ dan NaOCl dalam proses sterilisasi eksplan dari lapang. Metode dalam efektifitas sterilisasi ini sangat penting untuk diketahui sebagai pengetahuan awal dalam penggunaan ukuran suatu bahan sterilan pada sterilisasi eksplan. Sebagaimana disebutkan dalam Al-Qur'an surat Al-Qomar ayat 49 yang berbunyi:

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ ﴿٤٩﴾

Artinya:

Sesungguhnya kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran.

Menurut Abdullah (2003), dalam tafsir Ibnu Katsir sebagaimana firmanNya dalam surat Al-furqon ayat 2, yang artinya “Dan Dia menciptakan segala sesuatu, dan Dia menetapkan ukuran-ukurannya dengan serapi-rapinya”. Maksudnya, Dia menetapkan suatu ukuran dan memberikan petunjuk terhadap semua makhluk kepada ketetapan tersebut. Oleh karena itu, para ulama' sunnah menjadikan ayat yang mulia ini sebagai dalil untuk menetapkan takdir Allah Ta'ala bagi suatu makhluk sebelum itu diciptakan. Dan itu merupakan ilmu Allah terhadap segala sesuatu sebelum adanya dan pencatatan ketentuan masing-masing makhluk sebelum semuanya tercipta. Dari penjelasan ayat Al-Qur'an dan tafsir diatas bahwa dalam segala sesuatu, Allah telah menetapkan segala penciptaanya menurut ukuran masing-masing sehingga tidak lepas dalam penelitian ini peneliti ingin mengetahui ilmu dalam menentukan kadar konsentrasi bahan sterilan yang efektif digunakan dalam sterilisasi eksplan lapang tunas *Acacia mangium*.