

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Jambu Jamaika (*Syzygium malaccense* L.)

2.1.1 Klasifikasi Tanaman Jambu Jamaika (*Syzygium malaccense* L.)

Jambu Jamaika (*Syzygium malaccense* L.) merupakan salah satu tanaman buah tropis yang termasuk dalam famili Myrtaceae. Tanaman ini merupakan salah satu spesies dari genus *Syzygium* yang memiliki penyebaran di wilayah tropis dan memiliki berbagai potensi pemanfaatan, baik sebagai tanaman buah maupun sumber senyawa bioaktif. Genus *Syzygium* juga dikenal memiliki berbagai spesies yang dimanfaatkan dalam bidang pangan, kesehatan, dan pengembangan bahan alami (Prasniewski et al., 2021).

Menurut klasifikasi botani, jambu Jamaika memiliki kedudukan sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Divisi : Tracheophyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Myrtales

Famili : Myrtaceae

Genus : *Syzygium*

Spesies : *Syzygium malaccense* (L.) Merr. & L.M.Perry

Tanaman *Syzygium malaccense* dikenal dengan beberapa nama umum, seperti *Malay apple*, *mountain apple*, dan *rose apple*. Tanaman ini tumbuh dan berkembang dengan baik pada wilayah beriklim tropis yang memiliki suhu relatif tinggi dan kelembapan yang cukup. Selain dimanfaatkan sebagai tanaman buah, *Syzygium malaccense* juga memiliki potensi sebagai sumber senyawa bioaktif, terutama senyawa fenolik yang berhubungan dengan aktivitas antioksidan (Prasniewski et al., 2021).

2.1.2 Morfologi Tanaman Jambu Jamaika

Jambu Jamaika merupakan tanaman tahunan berbentuk pohon yang dapat tumbuh dengan ukuran cukup besar. Tanaman ini memiliki batang berkayu dengan percabangan yang banyak sehingga membentuk tajuk yang cukup lebat. Sistem perakaran yang berkembang mendukung kemampuan tanaman dalam menyerap air dan unsur hara untuk menunjang pertumbuhan vegetatif maupun generatif (Prasniowski et al., 2021).

Daun jambu Jamaika memiliki bentuk lonjong hingga elips dengan permukaan daun yang halus. Daun muda dapat memiliki warna yang berbeda sebelum berkembang menjadi hijau. Karakteristik daun tersebut merupakan salah satu bagian penting dalam pengenalan tanaman dari genus *Syzygium* (Prasniowski et al., 2021).

Menurut Prasniowski et al. (2021), tanaman *Syzygium malaccense* memiliki karakteristik yang menarik untuk dikaji karena mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder yang tersebar pada beberapa bagian tanaman, terutama daun. Senyawa tersebut menunjukkan bahwa tanaman *Syzygium malaccense* tidak hanya memiliki potensi sebagai tanaman buah, tetapi juga sebagai sumber bahan alami yang bernilai tambah.

Buah jambu Jamaika memiliki karakteristik yang menjadi salah satu daya tarik tanaman ini sebagai buah tropis. Karakteristik morfologi dan kandungan senyawa bioaktif pada tanaman *Syzygium malaccense* menunjukkan adanya potensi pengembangan tanaman tersebut, baik sebagai tanaman buah maupun sebagai sumber senyawa alami yang bermanfaat (Prasniowski et al., 2021).

2.1.3 Kandungan Bioaktif dan Manfaat Jambu Jamaika

Selain sebagai tanaman buah, jambu Jamaika memiliki potensi sebagai sumber senyawa bioaktif. Senyawa bioaktif merupakan komponen alami yang terdapat pada tanaman dan memiliki aktivitas biologis tertentu sehingga berpotensi dimanfaatkan dalam bidang pangan maupun kesehatan. Menurut Prasniowski et al. (2021), *Syzygium malaccense* mengandung berbagai senyawa fenolik yang memiliki aktivitas fungsional dan berpotensi memberikan manfaat sebagai sumber bahan alami.

Prasniewski et al. (2021) menjelaskan bahwa ekstrak *Syzygium malaccense* mengandung berbagai senyawa fenolik seperti flavonoid dan turunan asam fenolat yang memiliki aktivitas antioksidan. Senyawa tersebut berperan dalam menangkal radikal bebas melalui mekanisme penghambatan reaksi oksidasi.

Keberadaan senyawa fenolik pada tanaman juga menjadi salah satu faktor yang perlu diperhatikan dalam kultur jaringan. Kandungan senyawa fenolik yang tinggi dapat menyebabkan terjadinya pencoklatan (*browning*) pada eksplan akibat proses oksidasi selama proses kultur *in vitro*. Menurut Prasniewski et al. (2021), *Syzygium malaccense* mengandung berbagai senyawa fenolik yang tersebar pada bagian tanaman, sehingga keberadaan senyawa tersebut perlu diperhatikan dalam proses pengembangan dan kultur *in vitro*.

Menurut Prasniewski et al. (2021), potensi bioaktif pada tanaman *Syzygium malaccense* menunjukkan bahwa tanaman ini memiliki peluang untuk dikembangkan tidak hanya sebagai tanaman buah, tetapi juga sebagai sumber bahan alami yang memiliki nilai tambah.

2.1.4 Potensi Pengembangan Jambu Jamaika

Pengembangan jambu Jamaika di Indonesia masih menghadapi beberapa kendala, salah satunya adalah keterbatasan penyediaan bibit berkualitas dalam jumlah besar. Ketersediaan bibit merupakan faktor penting dalam mendukung pengembangan dan produksi tanaman karena kualitas bahan tanam memengaruhi pertumbuhan serta produktivitas tanaman. Menurut Soumare et al. (2021), ketersediaan bahan tanam yang berkualitas merupakan salah satu aspek penting dalam mendukung keberhasilan perbanyakan dan pengembangan tanaman hortikultura.

Perbanyakan tanaman secara konvensional melalui biji memiliki beberapa kelemahan, salah satunya dapat menghasilkan tanaman dengan variasi sifat. Selain itu, metode perbanyakan vegetatif seperti cangkok dan okulasi memiliki keterbatasan dalam menghasilkan bibit dalam jumlah besar secara cepat. Sharma dan Kathayat (2021) menjelaskan bahwa metode perbanyakan konvensional

memiliki keterbatasan dalam memenuhi kebutuhan bibit tanaman secara cepat, seragam, dan dalam jumlah besar.

Oleh karena itu, teknologi kultur jaringan menjadi salah satu alternatif yang dapat diterapkan untuk mendukung pengembangan tanaman jambu Jamaika. Melalui teknik kultur *in vitro*, tanaman dapat diperbanyak dalam jumlah besar dalam kondisi yang lebih terkendali. Bettoni et al. (2024) menyatakan bahwa teknik *in vitro* dapat digunakan untuk mendukung perbanyakan tanaman hortikultura secara efisien serta menghasilkan bahan tanaman dalam jumlah yang lebih besar.

2.2 Kultur Jaringan Tanaman *in vitro*

2.2.1 Pengertian Kultur Jaringan

Kultur jaringan merupakan salah satu teknik perbanyakan tanaman secara *in vitro* yang dilakukan dengan menumbuhkan bagian tanaman berupa sel, jaringan, organ, atau protoplas pada media kultur buatan yang mengandung unsur hara lengkap, vitamin, sumber karbon, dan zat pengatur tumbuh dalam kondisi aseptik serta lingkungan yang terkendali. Teknik ini didasarkan pada kemampuan sel tanaman untuk tumbuh, membelah, dan beregenerasi menjadi individu baru apabila berada pada kondisi yang sesuai (Soumare et al., 2021).

Seiring dengan perkembangan bioteknologi, kultur jaringan telah menjadi metode yang banyak diterapkan dalam perbanyakan berbagai jenis tanaman, khususnya tanaman hortikultura, karena mampu menghasilkan bibit dalam jumlah besar dengan waktu yang relatif singkat. Selain itu, bibit yang dihasilkan memiliki tingkat keseragaman yang tinggi, terutama apabila berasal dari eksplan vegetatif, sehingga sifat unggul tanaman induk dapat dipertahankan (Sharma & Kathayat, 2021).

Tidak hanya dimanfaatkan untuk perbanyakan tanaman, teknik kultur jaringan juga berperan dalam konservasi plasma nutfah, produksi tanaman bebas patogen, penyelamatan spesies langka, produksi metabolit sekunder, serta mendukung program pemuliaan tanaman. Oleh karena itu, kultur jaringan menjadi

salah satu teknologi yang memiliki peran penting dalam pengembangan sektor pertanian modern (Yali & Begna, 2021).

2.2.2 Prinsip Dasar Kultur *In Vitro*

Kultur jaringan didasarkan pada konsep totipotensi, yaitu kemampuan setiap sel tanaman yang masih hidup untuk berkembang menjadi tanaman utuh apabila memperoleh nutrisi, hormon, dan kondisi lingkungan yang sesuai. Prinsip ini menjadi dasar pengembangan berbagai teknik kultur *in vitro* karena hampir seluruh sel tanaman memiliki informasi genetik lengkap untuk membentuk individu baru (Soumare et al., 2021).

Dalam pelaksanaannya, eksplan ditanam pada media kultur yang mengandung unsur hara makro dan mikro, vitamin, sukrosa sebagai sumber energi, serta zat pengatur tumbuh, terutama golongan auksin dan sitokinin. Kombinasi kedua hormon tersebut berperan penting dalam mengendalikan proses pembelahan sel, diferensiasi jaringan, pembentukan kalus, induksi tunas, maupun pembentukan akar. Rasio auksin dan sitokinin yang berbeda akan menghasilkan respons pertumbuhan yang berbeda pula sehingga perlu disesuaikan dengan tujuan kultur (Kamińska, 2021).

Selain media kultur, kondisi lingkungan selama proses kultur juga harus dikendalikan secara optimal. Faktor-faktor seperti suhu, intensitas cahaya, lama penyinaran (*photoperiod*), kelembapan, serta derajat keasaman (Ph) media berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksplan. Seluruh tahapan kultur dilakukan secara aseptik untuk mencegah masuknya mikroorganisme yang dapat menyebabkan kontaminasi dan menghambat regenerasi jaringan tanaman (Soumare et al., 2021).

2.2.3 Tahapan Kultur Jaringan

Pelaksanaan kultur jaringan terdiri atas beberapa tahapan yang saling berkaitan. Tahap pertama adalah pemilihan tanaman induk (*stock plant*) dan pengambilan eksplan. Tanaman induk yang digunakan harus memiliki kondisi fisiologis yang baik, bebas dari serangan hama maupun penyakit, serta memiliki sifat unggul sehingga bibit yang dihasilkan memiliki kualitas yang optimal. Eksplan yang umum digunakan berupa jaringan muda, seperti pucuk, tunas, atau

meristem, karena memiliki aktivitas pembelahan sel yang tinggi dan lebih responsif terhadap proses regenerasi (Yali & Begna, 2021).

Tahap berikutnya adalah sterilisasi eksplan. Sterilisasi bertujuan menghilangkan bakteri, jamur, maupun mikroorganisme lain yang terdapat pada permukaan atau di dalam jaringan tanaman sehingga eksplan dapat tumbuh pada media kultur tanpa mengalami kontaminasi. Proses ini umumnya dilakukan menggunakan kombinasi air mengalir, fungisida, bakterisida, alkohol 70%, larutan natrium hipoklorit (NaOCl), atau bahan sterilan lainnya sesuai karakteristik eksplan yang digunakan. Tahap sterilisasi merupakan salah satu faktor yang paling menentukan keberhasilan kultur *in vitro* karena media kultur yang kaya nutrisi sangat mendukung pertumbuhan mikroorganisme (Soumare et al., 2021).

Setelah proses sterilisasi selesai, eksplan diinokulasikan ke dalam media kultur secara aseptik di dalam *laminar air flow cabinet*. Media yang paling banyak digunakan adalah media Murashige dan Skoog (MS) karena mengandung unsur hara yang lengkap untuk menunjang pertumbuhan berbagai jenis tanaman. Komposisi media dapat dimodifikasi dengan penambahan zat pengatur tumbuh sesuai tujuan kultur, seperti induksi tunas, pembentukan kalus, maupun pembentukan akar (Sharma & Kathayat, 2021).

Tahap selanjutnya adalah inkubasi kultur. Botol kultur disimpan pada ruang kultur dengan suhu sekitar $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, kelembapan, dan pencahayaan yang terkontrol. Selama masa inkubasi dilakukan pengamatan terhadap munculnya kontaminasi, perubahan warna jaringan, pembentukan kalus, pertumbuhan tunas, serta pembentukan akar. Pengamatan ini bertujuan untuk mengevaluasi respons eksplan terhadap media kultur yang digunakan (Yali & Begna, 2021).

Apabila eksplan telah menunjukkan pertumbuhan yang baik, dilakukan proses subkultur dengan memindahkan eksplan ke media baru yang masih kaya nutrisi. Subkultur bertujuan mempertahankan pertumbuhan eksplan, memperbanyak jumlah tunas, serta mencegah penurunan kualitas media akibat habisnya unsur hara. Setelah planlet berkembang secara sempurna dengan terbentuknya tunas dan akar, dilakukan tahap aklimatisasi, yaitu pemindahan bibit dari kondisi *in vitro* ke lingkungan *ex vitro* secara bertahap agar mampu

beradaptasi terhadap perubahan suhu, kelembapan, dan intensitas cahaya sebelum ditanam di lapangan (Sharma & Kathayat, 2021).

2.2.4 Faktor yang Memengaruhi Keberhasilan Kultur

Keberhasilan kultur jaringan dipengaruhi oleh berbagai faktor yang saling berinteraksi. Salah satu faktor utama adalah kualitas eksplan. Eksplan yang berasal dari tanaman induk sehat, masih muda, dan memiliki aktivitas pembelahan sel yang tinggi umumnya menunjukkan kemampuan regenerasi yang lebih baik dibandingkan jaringan yang telah tua atau mengalami kerusakan fisiologis (Yali & Begna, 2021).

Sterilisasi eksplan merupakan faktor yang sangat menentukan pada tahap awal kultur. Proses sterilisasi harus mampu menghilangkan mikroorganisme penyebab kontaminasi tanpa menimbulkan kerusakan pada jaringan tanaman. Penggunaan bahan sterilan dengan konsentrasi yang terlalu tinggi atau waktu perendaman yang terlalu lama dapat menyebabkan nekrosis, pencokelatan (*browning*), bahkan kematian eksplan. Sebaliknya, proses sterilisasi yang kurang efektif akan meningkatkan risiko kontaminasi oleh bakteri maupun jamur sehingga menyebabkan kegagalan kultur (Soumare et al., 2021).

Komposisi media kultur juga berpengaruh terhadap keberhasilan regenerasi tanaman. Kandungan unsur hara, vitamin, sukrosa, serta keseimbangan zat pengatur tumbuh harus disesuaikan dengan kebutuhan setiap jenis tanaman. Rasio auksin dan sitokinin yang tepat akan menentukan arah diferensiasi jaringan, baik menuju pembentukan kalus, tunas, maupun akar (Kamińska, 2021).

Selain faktor media, kondisi lingkungan selama inkubasi turut menentukan keberhasilan kultur. Suhu, intensitas cahaya, fotoperiode, kelembapan, serta pH media harus dipertahankan dalam kondisi optimal agar proses metabolisme dan pertumbuhan eksplan berlangsung secara normal. Ketidaksesuaian kondisi lingkungan dapat menghambat pertumbuhan bahkan menyebabkan kematian jaringan tanaman (Sharma & Kathayat, 2021).

Faktor lain yang tidak kalah penting adalah penerapan teknik aseptik selama proses kultur berlangsung. Seluruh peralatan, media, dan ruang kerja harus disterilisasi dengan baik, sedangkan proses inokulasi harus dilakukan secara hati-

hati untuk mencegah masuknya mikroorganisme ke dalam media kultur. Oleh karena itu, keberhasilan kultur jaringan tidak hanya ditentukan oleh kualitas eksplan dan media, tetapi juga oleh ketelitian peneliti dalam menerapkan prosedur aseptik pada setiap tahapan kultur (Soumare et al., 2021).

2.3 Eksplan dalam Kultur Jaringan

2.3.1 Pengertian Eksplan

Eksplan merupakan bagian tanaman yang digunakan sebagai bahan awal dalam proses kultur jaringan atau kultur *in vitro*. Eksplan dapat berupa sel, jaringan, maupun organ tanaman yang memiliki kemampuan untuk tumbuh dan berkembang apabila diberikan kondisi lingkungan yang sesuai. Bagian tanaman yang digunakan sebagai eksplan akan mengalami serangkaian proses fisiologis berupa adaptasi terhadap lingkungan kultur, pembelahan sel, pembentukan jaringan baru, hingga regenerasi menjadi tanaman lengkap. Menurut Soumare et al. (2021), keberhasilan pertumbuhan dan regenerasi tanaman secara *in vitro* dipengaruhi oleh jenis serta kondisi eksplan yang digunakan.

Penggunaan eksplan dalam kultur jaringan didasarkan pada konsep totipotensi sel tanaman, yaitu kemampuan suatu sel tanaman untuk menghasilkan individu baru apabila memperoleh kondisi nutrisi, lingkungan, dan zat pengatur tumbuh yang sesuai. Oleh karena itu, pemilihan eksplan menjadi salah satu tahap penting yang menentukan keberhasilan proses regenerasi tanaman secara *in vitro*. Yali dan Begna (2021) menjelaskan bahwa prinsip totipotensi merupakan dasar penting dalam penerapan teknik kultur jaringan tanaman.

Menurut Gantait et al. (2022), keberhasilan kultur jaringan sangat dipengaruhi oleh kemampuan eksplan dalam melakukan regenerasi. Setiap jenis eksplan memiliki tingkat respons yang berbeda terhadap kondisi kultur karena dipengaruhi oleh faktor genetik, umur jaringan, tingkat diferensiasi sel, serta kondisi fisiologis tanaman induk.

Eksplan yang digunakan dalam kultur jaringan harus berasal dari tanaman induk yang sehat, memiliki pertumbuhan optimal, serta bebas dari gangguan patogen. Kondisi tanaman induk akan memengaruhi kualitas jaringan yang

digunakan sebagai eksplan, termasuk kandungan nutrisi, aktivitas metabolisme, serta kemampuan jaringan dalam merespons perlakuan kultur. Menurut Soumare et al. (2021), kondisi dan kualitas bahan tanaman merupakan salah satu faktor penting yang memengaruhi keberhasilan pertumbuhan dan regenerasi eksplan dalam kultur *in vitro*.

Tanaman induk yang mengalami cekaman lingkungan, kekurangan unsur hara, atau terserang penyakit cenderung menghasilkan eksplan dengan kemampuan regenerasi yang lebih rendah. Sebaliknya, tanaman induk dengan kondisi fisiologis yang baik akan menghasilkan eksplan yang lebih vigor dan memiliki kemampuan tumbuh yang lebih tinggi. Sekhar et al. (2023) menjelaskan bahwa kondisi fisiologis bahan tanaman dan pemilihan eksplan yang tepat merupakan faktor penting dalam menentukan keberhasilan kultur jaringan.

Menurut Soumare et al. (2021), kualitas eksplan menjadi salah satu faktor penting dalam menentukan keberhasilan kultur *in vitro* karena eksplan merupakan sumber awal pembentukan dan regenerasi jaringan tanaman. Oleh sebab itu, pemilihan jenis, umur, ukuran, dan kondisi eksplan perlu diperhatikan sebelum dilakukan proses sterilisasi dan penanaman pada media kultur.

Dalam kultur jaringan, eksplan memiliki peranan penting sebagai sumber jaringan yang akan mengalami proses dediferensiasi dan rediferensiasi. Dediferensiasi merupakan proses perubahan sel tanaman yang telah terdiferensiasi menjadi sel yang kembali memiliki kemampuan membelah, sedangkan rediferensiasi merupakan proses pembentukan kembali jaringan atau organ baru, seperti tunas dan akar. Menurut Yali dan Begna (2021), kemampuan sel tanaman untuk tumbuh dan beregenerasi menjadi dasar penting dalam keberhasilan proses kultur jaringan.

Dengan demikian, keberhasilan kultur jaringan sangat bergantung pada kemampuan eksplan untuk bertahan hidup setelah proses sterilisasi serta kemampuannya melakukan regenerasi pada media kultur yang sesuai. Sekhar et al. (2023) menjelaskan bahwa keberhasilan kultur jaringan dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk kualitas eksplan, kondisi sterilisasi, media kultur, dan lingkungan pertumbuhan.

2.3.2 Jenis-Jenis Eksplan

Eksplan merupakan bagian tanaman yang digunakan sebagai bahan awal dalam kultur jaringan. Pada dasarnya, hampir seluruh bagian tanaman dapat dimanfaatkan sebagai eksplan selama memiliki kemampuan untuk tumbuh dan beregenerasi pada kondisi *in vitro*. Pemilihan jenis eksplan menjadi salah satu faktor penting dalam keberhasilan kultur jaringan karena setiap bagian tanaman memiliki kemampuan regenerasi yang berbeda. Pemilihan eksplan harus disesuaikan dengan tujuan penelitian, karakteristik tanaman, serta metode regenerasi yang ingin diperoleh (Ribeiro et al., 2021).

Beberapa jenis eksplan yang umum digunakan dalam kultur jaringan antara lain meristem pucuk, tunas apikal, tunas aksilar, daun, batang, ruas batang (*nodus*), akar, embrio, biji, dan kalus. Eksplan yang berasal dari jaringan meristematik seperti meristem pucuk dan tunas umumnya memiliki kemampuan regenerasi yang lebih tinggi karena tersusun atas sel-sel muda yang aktif mengalami pembelahan. Selain itu, jaringan meristem memiliki tingkat diferensiasi yang rendah sehingga lebih mudah diarahkan untuk membentuk organ baru. Menurut Soumare et al. (2021), pemilihan jenis dan sumber eksplan merupakan faktor penting yang menentukan kemampuan regenerasi tanaman dalam kultur *in vitro*.

Meristem pucuk merupakan jaringan yang terdapat pada bagian ujung pertumbuhan tanaman dan memiliki aktivitas pembelahan sel yang tinggi. Eksplan ini banyak digunakan dalam kultur jaringan karena memiliki kemampuan regenerasi yang baik serta relatif lebih sedikit membawa patogen dibandingkan bagian tanaman lainnya. Penggunaan meristem pucuk juga sering diterapkan dalam upaya menghasilkan tanaman yang sehat dan mempertahankan karakter genetik tanaman induk. Sekhar et al. (2023) menjelaskan bahwa penggunaan jaringan meristematik sebagai eksplan memiliki potensi yang baik dalam mendukung keberhasilan regenerasi dan perbanyakan tanaman secara *in vitro*.

Tunas apikal dan tunas aksilar juga banyak digunakan sebagai sumber eksplan dalam perbanyakan tanaman secara *in vitro*. Tunas apikal berasal dari bagian ujung batang yang mengandung jaringan meristem aktif, sedangkan tunas

aksilar berasal dari ketiak daun. Kedua jenis eksplan tersebut memiliki kemampuan membentuk tunas baru melalui proses multiplikasi sehingga banyak dimanfaatkan dalam perbanyakan tanaman secara klonal. Keunggulan penggunaan tunas sebagai eksplan adalah kemampuannya mempertahankan kestabilan genetik karena berasal dari jaringan vegetatif tanaman. Menurut Bettoni et al. (2024), penggunaan tunas dalam mikropropagasi merupakan salah satu pendekatan penting untuk menghasilkan tanaman dalam jumlah besar dengan karakteristik yang relatif seragam.

Selain tunas, bagian tanaman lain seperti daun, batang, ruas batang (*nodus*), dan akar juga dapat digunakan sebagai eksplan. Eksplan daun banyak digunakan dalam penelitian induksi kalus dan regenerasi tanaman karena memiliki kemampuan membentuk jaringan baru apabila diberikan perlakuan zat pengatur tumbuh yang sesuai. Sementara itu, eksplan batang dan nodus sering digunakan dalam mikropropagasi karena memiliki mata tunas yang dapat berkembang menjadi tunas baru. Eksplan akar juga dapat digunakan dalam penelitian kultur jaringan, terutama untuk induksi kalus dan kajian regenerasi, meskipun kemampuan regenerasinya pada beberapa tanaman cenderung lebih rendah dibandingkan jaringan muda. Menurut Yali dan Begna (2021), respons regenerasi eksplan dipengaruhi oleh jenis jaringan yang digunakan serta kondisi media dan perlakuan selama proses kultur.

Eksplan yang berasal dari embrio dan biji juga dapat dimanfaatkan dalam kultur jaringan, terutama untuk tujuan penyelamatan embrio, penelitian perkecambahan, dan regenerasi tanaman tertentu. Selain itu, kalus merupakan salah satu jenis bahan yang sering digunakan dalam kultur jaringan. Kalus merupakan kumpulan sel yang mengalami pembelahan secara tidak terorganisasi akibat adanya induksi pada media kultur. Kalus memiliki kemampuan regenerasi yang tinggi, tetapi penggunaan kalus dalam waktu lama dapat meningkatkan risiko terjadinya variasi somaklonal akibat perubahan selama proses kultur berlangsung. Menurut Thakur et al. (2024), proses kultur dan regenerasi melalui kalus perlu dikendalikan dengan baik karena kondisi kultur dapat memengaruhi stabilitas dan respons regenerasi tanaman.

Secara umum, eksplan yang berasal dari jaringan muda lebih banyak dipilih dalam kultur jaringan karena memiliki aktivitas metabolisme dan pembelahan sel yang lebih tinggi dibandingkan jaringan dewasa. Namun, setiap jenis eksplan memiliki kelebihan dan keterbatasan masing-masing sehingga pemilihannya harus mempertimbangkan kemampuan regenerasi, kestabilan genetik, tingkat kontaminasi, serta tujuan akhir dari kegiatan kultur jaringan (Ribeiro et al., 2021).

Pada penelitian tanaman jambu Jamaika (*Syzygium malaccense* L.), penggunaan tunas muda sebagai eksplan dipilih karena jaringan tersebut memiliki sel-sel meristematik yang aktif membelah sehingga diharapkan mampu memberikan respons pertumbuhan dan regenerasi yang baik setelah melalui proses sterilisasi.

2.3.3 Tunas Muda sebagai Eksplan

Tunas muda merupakan salah satu jenis eksplan yang banyak digunakan dalam kultur jaringan karena memiliki jaringan meristematik yang masih aktif mengalami pembelahan sel. Jaringan meristem pada tunas muda tersusun atas sel-sel yang belum mengalami diferensiasi sempurna sehingga memiliki kemampuan regenerasi yang tinggi. Kondisi tersebut menyebabkan tunas muda lebih responsif terhadap perlakuan kultur *in vitro*, baik dalam proses pembentukan tunas maupun regenerasi tanaman secara keseluruhan. Menurut Soumare et al. (2021), pemilihan eksplan yang berasal dari jaringan muda dan memiliki aktivitas pembelahan sel yang tinggi merupakan salah satu faktor penting dalam mendukung keberhasilan regenerasi tanaman secara *in vitro*.

Namun, penggunaan tunas muda sebagai eksplan memiliki hubungan yang erat dengan proses sterilisasi. Tunas muda yang digunakan sebagai bahan awal kultur umumnya berasal dari tanaman induk yang tumbuh di lingkungan lapangan sehingga permukaan maupun bagian jaringan tertentu berpotensi membawa mikroorganisme, seperti jamur dan bakteri. Mikroorganisme tersebut dapat berkembang pada media kultur dan menyebabkan kontaminasi. Oleh karena itu, sebelum ditanam pada media *in vitro*, tunas muda harus melalui proses sterilisasi untuk mengurangi atau menghilangkan mikroorganisme yang terdapat pada

eksplan. Menurut Permadi (2023), proses sterilisasi merupakan tahapan penting untuk menekan kontaminasi pada bahan tanaman yang akan digunakan dalam kultur *in vitro*.

Permasalahan utama dalam sterilisasi tunas muda adalah sifat jaringan tunas yang relatif muda, lunak, dan sensitif terhadap perlakuan bahan kimia. Di satu sisi, penggunaan bahan sterilan diperlukan untuk mengendalikan kontaminasi, tetapi di sisi lain konsentrasi bahan sterilan yang terlalu tinggi atau waktu perendaman yang terlalu lama dapat merusak jaringan tunas muda. Kerusakan tersebut dapat menyebabkan terjadinya pencokelatan (*browning*), nekrosis, hingga kematian eksplan. Menurut Permadi (2023), perlakuan sterilisasi perlu disesuaikan dengan karakteristik eksplan agar pengendalian kontaminasi dapat dilakukan tanpa menurunkan viabilitas jaringan.

Tunas muda memiliki kemampuan regenerasi yang tinggi karena jaringan yang digunakan masih aktif mengalami pembelahan sel. Namun, kemampuan regenerasi tersebut hanya dapat dimanfaatkan apabila jaringan tetap hidup dan tidak mengalami kerusakan setelah proses sterilisasi. Oleh karena itu, keberhasilan penggunaan tunas muda sebagai eksplan sangat bergantung pada keseimbangan antara efektivitas sterilisasi dalam mengendalikan kontaminasi dan kemampuan eksplan untuk mempertahankan viabilitas serta melakukan regenerasi. Soumare et al. (2021) menjelaskan bahwa kondisi dan kualitas eksplan merupakan faktor penting yang memengaruhi keberhasilan pertumbuhan tanaman dalam kultur *in vitro*.

Selain risiko kerusakan akibat bahan sterilan, tunas muda yang berasal dari tanaman lapangan juga berpotensi membawa mikroorganisme permukaan maupun mikroorganisme endofit. Mikroorganisme tersebut dapat berkembang selama proses kultur dan menyebabkan kontaminasi yang menghambat pertumbuhan atau menyebabkan kematian eksplan. Oleh karena itu, metode sterilisasi yang digunakan harus disesuaikan dengan kondisi dan karakteristik tunas muda agar mampu mengendalikan kontaminasi tanpa menyebabkan kerusakan yang berlebihan pada jaringan. Permadi (2023) menyatakan bahwa keberhasilan

sterilisasi dipengaruhi oleh kesesuaian antara jenis bahan sterilan, konsentrasi, dan lama perlakuan terhadap karakteristik eksplan yang digunakan.

Keberhasilan penggunaan tunas muda sebagai eksplan dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti umur tunas, kondisi fisiologis tanaman induk, ukuran eksplan, jenis bahan sterilan, konsentrasi larutan sterilan, serta lama waktu perlakuan sterilisasi. Optimasi faktor-faktor tersebut diperlukan agar eksplan tunas muda mampu bertahan hidup, bebas dari kontaminasi, dan tetap memiliki kemampuan regenerasi yang optimal. Dengan demikian, proses sterilisasi menjadi salah satu tahapan penting yang menentukan keberhasilan penggunaan tunas muda dalam kultur jaringan. Sekhar et al. (2023) menjelaskan bahwa karakteristik fisiologis bahan tanaman dan kesesuaian perlakuan yang diberikan merupakan faktor penting dalam menentukan respons eksplan pada kondisi *in vitro*.

2.3.4 Faktor yang Mempengaruhi Keberhasilan Eksplan

Keberhasilan pertumbuhan dan regenerasi eksplan dalam kultur jaringan dipengaruhi oleh berbagai faktor yang berasal dari tanaman maupun kondisi selama proses kultur *in vitro*. Setiap faktor memiliki peran penting dalam menentukan kemampuan eksplan untuk bertahan hidup, membelah, dan berkembang menjadi tanaman baru. Menurut Gantait et al. (2022), keberhasilan regenerasi eksplan dipengaruhi oleh interaksi antara faktor genetik, kondisi fisiologis tanaman, jenis eksplan, media kultur, zat pengatur tumbuh, serta kondisi lingkungan kultur.

Faktor pertama yang memengaruhi keberhasilan eksplan adalah genotipe tanaman. Setiap spesies maupun varietas tanaman memiliki kemampuan regenerasi yang berbeda karena dipengaruhi oleh karakter genetik masing-masing. Perbedaan genotipe menyebabkan respons eksplan terhadap media kultur dan perlakuan zat pengatur tumbuh dapat berbeda pada setiap jenis tanaman. Menurut Yali dan Begna (2021), respons pertumbuhan dan regenerasi tanaman dalam kondisi *in vitro* dapat berbeda sesuai dengan karakteristik genetik dan kemampuan fisiologis masing-masing tanaman.

Selain faktor genetik, umur eksplan juga berpengaruh terhadap kemampuan regenerasi. Eksplan yang berasal dari jaringan muda umumnya

memiliki kemampuan tumbuh yang lebih tinggi karena memiliki sel-sel yang aktif membelah dan tingkat metabolisme yang lebih tinggi dibandingkan dengan jaringan dewasa. Oleh karena itu, jaringan muda, seperti tunas muda, sering digunakan sebagai bahan eksplan dalam kultur jaringan. Soumare et al. (2021) menjelaskan bahwa pemilihan eksplan dengan kondisi fisiologis yang sesuai merupakan salah satu faktor penting dalam mendukung keberhasilan regenerasi tanaman secara *in vitro*.

Ukuran eksplan juga perlu diperhatikan karena berhubungan dengan kemampuan eksplan untuk bertahan hidup selama kultur berlangsung. Eksplan yang terlalu kecil memiliki cadangan nutrisi dan jaringan aktif yang terbatas, sedangkan eksplan yang terlalu besar dapat meningkatkan risiko kontaminasi. Oleh karena itu, ukuran eksplan yang sesuai diperlukan untuk memperoleh keseimbangan antara kemampuan bertahan hidup dan keberhasilan regenerasi. Menurut Sekhar et al. (2023), karakteristik dan kondisi bahan tanaman yang digunakan sebagai eksplan perlu diperhatikan untuk mendukung respons pertumbuhan yang optimal dalam kultur *in vitro*.

Kondisi tanaman induk turut menentukan kualitas eksplan yang digunakan. Tanaman induk yang sehat, tumbuh optimal, dan bebas dari penyakit akan menghasilkan eksplan dengan kondisi fisiologis yang lebih baik sehingga memiliki kemampuan regenerasi yang lebih tinggi. Sebaliknya, tanaman induk yang mengalami cekaman dapat menghasilkan eksplan dengan daya tumbuh yang lebih rendah. Soumare et al. (2021) menyatakan bahwa kualitas bahan tanaman merupakan salah satu faktor penting yang perlu diperhatikan dalam menentukan keberhasilan pertumbuhan dan regenerasi eksplan.

Faktor penting lainnya adalah teknik sterilisasi eksplan. Sterilisasi harus mampu menghilangkan atau menekan mikroorganisme penyebab kontaminasi tanpa menyebabkan kerusakan pada jaringan tanaman. Penggunaan bahan sterilan dengan konsentrasi atau lama perlakuan yang tidak tepat dapat menyebabkan kerusakan sel, pencokelatan (*browning*), hingga kematian eksplan. Permadi (2023) menjelaskan bahwa keberhasilan sterilisasi sangat dipengaruhi oleh

kesesuaian antara jenis bahan sterilan, konsentrasi, dan lama perlakuan dengan karakteristik jaringan eksplan.

Selain itu, media kultur dan zat pengatur tumbuh berperan penting dalam menentukan arah perkembangan eksplan. Komposisi nutrisi dan keseimbangan zat pengatur tumbuh, terutama auksin dan sitokinin, dapat memengaruhi proses pembentukan tunas, akar, maupun kalus. Kondisi lingkungan kultur, seperti suhu, cahaya, dan kelembapan, juga berpengaruh terhadap keberhasilan pertumbuhan eksplan. Menurut Thakur et al. (2024), keberhasilan regenerasi tanaman secara *in vitro* dipengaruhi oleh interaksi antara kondisi eksplan, komposisi media kultur, zat pengatur tumbuh, dan lingkungan pertumbuhan.

2.4 Sterilisasi Eksplan

2.4.1 Pengertian Sterilisasi Eksplan

Sterilisasi eksplan merupakan salah satu tahapan penting dalam proses kultur jaringan yang bertujuan untuk menghilangkan atau mengurangi keberadaan mikroorganisme yang terdapat pada permukaan maupun jaringan tanaman sebelum dilakukan penanaman secara *in vitro*. Tahap sterilisasi dilakukan untuk menciptakan kondisi eksplan yang bebas dari kontaminasi sehingga eksplan mampu tumbuh dan berkembang pada media kultur secara optimal. Menurut Permadi (2023), proses sterilisasi merupakan salah satu tahapan penting dalam kultur jaringan untuk menekan keberadaan mikroorganisme yang dapat menyebabkan kontaminasi.

Pentingnya proses sterilisasi berkaitan dengan asal eksplan yang digunakan dalam kultur jaringan. Eksplan yang berasal dari tanaman lapangan umumnya membawa berbagai jenis mikroorganisme, seperti bakteri, jamur, serta mikroorganisme endofit yang berada di dalam jaringan tanaman. Keberadaan mikroorganisme tersebut menjadi salah satu hambatan utama dalam kultur jaringan karena media kultur mengandung nutrisi yang dapat mendukung pertumbuhan mikroorganisme. Permadi (2023) menjelaskan bahwa sumber kontaminasi pada kultur *in vitro* dapat berasal dari mikroorganisme yang terdapat pada permukaan maupun bagian internal jaringan eksplan.

Apabila mikroorganisme tersebut tidak dapat dikendalikan melalui proses sterilisasi, kontaminasi dapat terjadi selama proses kultur *in vitro*. Kontaminasi dapat menyebabkan persaingan antara mikroorganisme dan eksplan dalam memperoleh nutrisi, menghambat pertumbuhan jaringan, menghasilkan senyawa penghambat, hingga menyebabkan kematian eksplan. Menurut Sivanesan et al. (2021), kontaminasi merupakan salah satu penyebab utama kegagalan kultur jaringan karena mikroorganisme mampu berkembang dengan cepat pada kondisi media yang kaya nutrisi.

Oleh karena itu, keberhasilan sterilisasi tidak hanya ditentukan oleh kemampuan bahan sterilan dalam menghilangkan kontaminan, tetapi juga oleh kemampuannya menjaga kondisi dan viabilitas jaringan eksplan. Metode sterilisasi harus dilakukan secara tepat agar mampu menghilangkan atau menekan kontaminan tanpa menyebabkan kerusakan pada jaringan tanaman. Permadi (2023) menyatakan bahwa keberhasilan sterilisasi dipengaruhi oleh kesesuaian antara jenis bahan sterilan, konsentrasi, dan lama perlakuan dengan karakteristik eksplan yang digunakan.

2.4.2 Tujuan Sterilisasi Eksplan

Sterilisasi eksplan merupakan tahapan penting dalam kultur jaringan yang bertujuan untuk memperoleh bahan tanam yang bebas dari mikroorganisme pengganggu sehingga eksplan mampu tumbuh dan beregenerasi pada kondisi *in vitro*. Proses ini dilakukan untuk menghilangkan atau menekan keberadaan bakteri, jamur, maupun mikroorganisme lain yang dapat menyebabkan kontaminasi selama kultur berlangsung (Gantait et al., 2022).

Selain mengurangi risiko kontaminasi, sterilisasi eksplan juga bertujuan untuk mempertahankan viabilitas jaringan tanaman agar sel tetap mampu melakukan pembelahan dan regenerasi. Sterilisasi yang efektif harus mampu mengendalikan mikroorganisme tanpa menyebabkan kerusakan pada jaringan eksplan. Penggunaan bahan sterilan dengan konsentrasi terlalu tinggi atau waktu perlakuan yang terlalu lama dapat menyebabkan kerusakan jaringan, pencokelatan (*browning*), hingga kematian eksplan (Sivanesan et al., 2021).

Oleh karena itu, diperlukan optimasi metode sterilisasi yang tepat agar diperoleh keseimbangan antara pengendalian kontaminasi dan kemampuan hidup eksplan. Pada penelitian optimalisasi sterilisasi eksplan tunas muda tanaman jambu Jamaika (*Syzygium malaccense* L.) untuk penanaman *in vitro*, tahap sterilisasi menjadi faktor penting untuk memperoleh eksplan yang sehat, bebas kontaminasi, dan mampu tumbuh secara optimal (Sivanesan et al., 2021).

2.4.3 Sumber Kontaminasi Kultur *In Vitro*

Kontaminasi merupakan salah satu faktor penghambat utama dalam keberhasilan kultur jaringan karena dapat mengganggu pertumbuhan eksplan bahkan menyebabkan kegagalan kultur. Mikroorganisme penyebab kontaminasi dapat berasal dari bahan tanaman, media kultur, peralatan, maupun lingkungan selama proses kultur berlangsung (Sivanesan et al., 2021).

Sumber kontaminasi yang paling umum berasal dari eksplan karena bahan tanaman yang digunakan berasal dari lingkungan alami yang banyak mengandung mikroorganisme, seperti bakteri dan jamur. Selain mikroorganisme permukaan, beberapa tanaman juga memiliki mikroorganisme endofit yang hidup di dalam jaringan tanaman sehingga lebih sulit dihilangkan melalui sterilisasi permukaan (Gantait et al., 2022).

Selain eksplan, media kultur juga dapat menjadi sumber kontaminasi apabila proses sterilisasi tidak dilakukan secara sempurna. Kandungan nutrisi dan gula dalam media kultur dapat menjadi lingkungan yang mendukung pertumbuhan mikroorganisme sehingga menghambat perkembangan eksplan (Sivanesan et al., 2021).

Kontaminasi juga dapat berasal dari peralatan dan lingkungan kerja, seperti alat kultur, wadah tanam, ruang kerja, maupun operator. Oleh karena itu, penerapan teknik aseptik dan sterilisasi yang tepat sangat diperlukan untuk meminimalkan masuknya mikroorganisme selama proses kultur *in vitro* (Soumare et al., 2021).

2.4.4 Faktor yang Memengaruhi Keberhasilan Sterilisasi

Keberhasilan sterilisasi eksplan dalam kultur jaringan dipengaruhi oleh beberapa faktor yang saling berkaitan, baik faktor yang berasal dari bahan

tanaman maupun perlakuan sterilisasi yang diberikan. Proses sterilisasi harus dilakukan secara tepat agar mampu menghilangkan mikroorganisme penyebab kontaminasi tanpa mengurangi kemampuan hidup dan regenerasi jaringan tanaman (Gantait et al., 2022).

Salah satu faktor yang memengaruhi keberhasilan sterilisasi adalah jenis dan kondisi eksplan. Setiap jenis tanaman memiliki karakteristik permukaan dan struktur jaringan yang berbeda sehingga membutuhkan perlakuan sterilisasi yang berbeda pula. Eksplan yang berasal dari jaringan muda seperti tunas muda umumnya memiliki kemampuan regenerasi tinggi, tetapi lebih sensitif terhadap bahan sterilan karena jaringan masih lunak dan mudah mengalami kerusakan(Permadi.,2023)

Faktor berikutnya adalah jenis bahan sterilan yang digunakan. Bahan sterilan seperti alkohol 70%, natrium hipoklorit (NaOCl), kalsium hipoklorit, dan hidrogen peroksida memiliki kemampuan berbeda dalam mengendalikan mikroorganisme. Pemilihan bahan sterilan harus disesuaikan dengan karakter eksplan agar efektif mengurangi kontaminasi tanpa menyebabkan kerusakan jaringan (Sivanesan et al., 2021).

Selain jenis bahan, konsentrasi dan lama waktu perlakuan sterilisasi juga menjadi faktor penting. Konsentrasi bahan sterilan yang terlalu rendah atau waktu perlakuan yang terlalu singkat dapat menyebabkan mikroorganisme masih bertahan sehingga meningkatkan risiko kontaminasi. Sebaliknya, konsentrasi yang terlalu tinggi atau waktu perlakuan terlalu lama dapat menyebabkan jaringan mengalami kerusakan, nekrosis, dan menurunkan kemampuan regenerasi eksplan(Permadi.,2023).

Faktor lain yang turut memengaruhi keberhasilan sterilisasi adalah tingkat kontaminasi awal, kondisi tanaman induk, serta penerapan teknik aseptik selama proses kultur. Tanaman induk yang sehat dan bebas penyakit umumnya menghasilkan eksplan dengan tingkat kontaminasi lebih rendah. Selain itu, kebersihan alat, ruang kerja, dan keterampilan operator dalam menerapkan teknik aseptik juga berperan dalam keberhasilan pembentukan kultur yang steril(Permadi.,2023).

Dengan demikian, keberhasilan sterilisasi eksplan merupakan hasil interaksi antara karakteristik bahan tanaman, jenis sterilan, konsentrasi, lama perlakuan, serta kondisi lingkungan kultur. Oleh karena itu, optimasi metode sterilisasi diperlukan untuk memperoleh kondisi perlakuan yang mampu menghasilkan eksplan sehat dengan tingkat kontaminasi rendah (Sivanesan et al., 2021).

2.4.5 Permasalahan *Browning* pada Eksplan

Pencokelatan atau *browning* merupakan salah satu permasalahan yang sering terjadi dalam kultur jaringan, terutama pada eksplan yang berasal dari tanaman berkayu maupun tanaman yang memiliki kandungan senyawa fenolik tinggi. *Browning* terjadi akibat adanya oksidasi senyawa fenolik yang keluar dari jaringan tanaman akibat luka selama proses pemotongan atau perlakuan sterilisasi (Gantait et al., 2022).

Senyawa fenolik yang mengalami oksidasi akan menghasilkan senyawa kuinon yang bersifat toksik bagi jaringan tanaman. Akumulasi senyawa tersebut dapat menyebabkan perubahan warna jaringan menjadi cokelat, menghambat aktivitas metabolisme sel, menurunkan kemampuan regenerasi, bahkan menyebabkan kematian eksplan (Gantait et al., 2022).

Pada tanaman dari genus *Syzygium*, termasuk jambu Jamaika (*Syzygium malaccense* L.), keberadaan senyawa fenolik menjadi salah satu faktor yang perlu diperhatikan dalam kultur *in vitro*. Senyawa fenolik yang tinggi dapat menyebabkan eksplan mengalami pencokelatan setelah proses sterilisasi maupun selama masa inkubasi (Prasniewski et al., 2021).

Beberapa faktor yang dapat meningkatkan terjadinya *browning* antara lain jenis dan umur eksplan, tingkat luka jaringan, kondisi fisiologis tanaman induk, paparan oksigen, serta komposisi media kultur. Eksplan yang mengalami stres akibat perlakuan sterilisasi berlebihan juga dapat meningkatkan pelepasan senyawa fenolik (Gantait et al., 2022).

Upaya mengurangi permasalahan *browning* dapat dilakukan melalui beberapa pendekatan, seperti penggunaan bahan antioksidan, pengurangan intensitas luka pada eksplan, pengaturan kondisi kultur, serta optimasi metode

sterilisasi. Oleh karena itu, pengendalian *browning* menjadi salah satu aspek penting dalam meningkatkan keberhasilan kultur *in vitro*, khususnya pada tanaman yang memiliki kandungan fenolik tinggi (Gantait et al., 2022).

2.5 Kerangka Pemikiran



