INISIASI TUNAS ACACIA HIBRID (*Acacia mangium* x *A. Auriculiformis*) SECARA IN-VITRO

*In-vitro Shoot Initiation of Acacia Hybrid (*Acacia mangium *x* A. auriculiformis*)*

Sri Sunarti dan Asri Insiana Putri
Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan
Jl. Palagan Tentara Pelajar Km. 15, Purwobinangun, Pakem, Sleman, Yogyakarta 55582
Telp. (0274) 895954, 896080, Fax. (0274) 896080

ABSTRACT

*Preliminary shoot growth on acacia hybrids (*Acacia mangium *x* A. auriculiformis*) was observed to assess their in-vitro shoot initiation. Explants were taken from 4 months old seedlings of* A. mangium, A. auriculiformis *and their hybrid. Murashige & Skoog's (MS) medium was used supplemented with various concentration of BAP,IBA,NAA, and GA4. Parameters measured were bud breaking, number of shoots,length of shoots,and number of leaves. The best average number and length of shoots and average number of leaves of acacia hybrid was 7 and 1.9 cm and 5.2 respectively, found in medium Ak2 culture. Bud breaking of acacia hybrids on that medium happened 15 days earlier than pure Acacia. This finding showed that acacia hybrid could be propagated by micro propagation successfully.*

Key Words : Acacia hybrids, tissue culture, explant

ABSTRAK

Pengamatan kemampuan bertunas pada acacia hibrid (*Acacia mangium* x *A. Auriculiformis*) secara *in-vitro* dilakukan untuk mengetahui kemampuan inisiasi tunas pada *A. mangium*, *A. auriculiformis* dan hibridnya secara *in vitro*. Materi eksplan adalah semai umur 4 bulan. Media yang digunakan adalah media MS (*Murashige* & *Skoog*) dengan penambahan kombinasi zat pengatur tumbuh (ZPT) BAP, IBA, NAA dan GA4 pada berbagai variasi tingkat konsentrasi. Parameter yang diukur adalah waktu kemunculan tunas pertama kali, jumlah tunas, panjang tunas dan jumlah daun. Media Ak2 dengan penambahan BAP (3 mg/l) , NAA (0,1 mg/l), dan GA4 (1 mg/l) merupakan media yang efektif untuk menumbuhkan tunas pada acacia hibrid dengan jumlah tunas rata-rata 7 per eksplan dan panjang tunas rata-rata 1,9 cm serta jumlah daun rata-rata 5,2. Pada media tersebut eksplan acacia hibrid bertunas (*bud breaking*) lebih cepat 15 hari dibandingkan eksplan acacia murni, yaitu pada hari ke-5. Hasil ini membuktikan bahwa perbanyakan hibrid *Acacia mangium* x *A. auriculiformis* secara *in-vitro* dapat dilakukan.

Kata Kunci : Aksia hibrid, kultur jaringan, eksplan

I. PENDAHULUAN

Hibridisasi antara *Acacia mangium* dan *A. auriculiformis* dapat terjadi secara alami (*natural hybrid*) ataupun secara buatan (*artificial hybrid*). Beberapa kelebihan tanaman hibrid ini antara lain adalah lebih tahan terhadap berbagai kondisi lingkungan tempat tumbuh, pertumbuhan dan bentuk batang yang lebih baik serta pulp yang dihasilkan mempunyai kualitas lebih baik dibandingkan dengan kedua induknya (Kijkar, 1992; Ibrahim, 1993; Nikles *et al*., 1998; Kha, 2001). Namun demikian tanaman acacia hibrid kurang menguntungkan apabila diperbanyak secara generatif, karena akan menghasilkan tanaman yang lebih buruk dibanding induknya, sehingga satu-satunya cara untuk mempertahankan sifat genetiknya adalah dengan perkembangbiakan secara vegetatif (Kha, 2001). Perbanyakan secara vegetatif pada acacia hibrid sangat diperlukan untuk perbanyakan secara masal hibrid F1 untuk pertanaman operasional yang sangat diperlukan dalam pembangunan perhutanan klon.

Penelitian tentang upaya memperbanyak secara vegetif acacia hibrid ini telah dilakukan (Wong dan Haines, 1991; Haines dan Griffin, 1991; Ahmad, 1991). Hasil penelitian di Thailand yang dilakukan oleh Kha (2001) menunjukkan bahwa tanaman hibrid *A. mangium* x *A. auriculiformis* dapat diperbanyak secara vegetatif dengan teknik kultur jaringan (mikro) dan stek pucuk (makro).

Teknik kultur jaringan meristem acacia hibrid pertama kali dikembangkan oleh Ahmad (1991) dengan media dasar MS (Murashige dan Skooge,1962) yang diperkaya dengan 6-Benzylaminopurin (BAP). Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) berupa hormon sitokinin seperti benzylaminopurin (BAP), kinetin, thiadizuron, serta hormon auksin seperti indolbutiricacid (IBA), naphtalenaceticacid (NAA) mempunyai peranan yang sangat penting dalam proses pembelahan sel dan perpanjangan sel pada meristem pucuk (Wattimena, 1988; Wilkins, 1989). Sampai saat ini teknik kultur jaringan pada acacia hibrid masih perlu dikembangkan terutama komposisi protokol yang optimal untuk pertumbuhan (Galiana *et al*.,2003)

Perbanyakan tanaman dengan metode stek pucuk mempunyai kendala apabila tanaman yang akan diperbanyak telah dewasa, karena biasanya memiliki keberhasilan kurang baik karena adanya *aging effect* (Hardiyanto, 1998). Selain itu pada tanaman dewasa jumlah tunas juga sangat terbatas, sehingga jumlah stek yang dihasilkan juga sangat terbatas. Perbanyakan secara mikro dengan kultur jaringan dipandang lebih menguntungkan karena keberhasilannya tidak ditentukan oleh umur tanaman dan jumlah individu tanaman (*planlet*) yang dihasilkan lebih banyak.

Keberhasilan perbanyakan secara mikro atau kultur jaringan memerlukan kondisi yang optimal untuk menghasilkan plantlet secara efisien. Penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan informasi tentang inisiasi tunas pada acacia hibrid secara *in-vitro* pada berbagai media tumbuh dan membandingkan pertumbuhan antara acacia hibrid dengan acacia murni.

II. METODOLOGI PENELITIAN

A. Materi tanaman

Materi tanaman yang digunakan adalah meristem aksiler semai hibrid *A. mangium* x *A. auriculiformis* umur 4 bulan sebanyak 6 individu (Hb1 - Hb6) hasil penyerbukan buatan di kebun persilangan acacia di BBPBPTH. Sebagai pembanding digunakan semai *A. mangium* murni (Am1-Am3) dan *A. auriculiformis* murni (Au1-Au3) dengan umur yang sama. Pengambilan materi tanaman (eksplan) dilakukan pada bulan Desember 2008.

B. Persiapan media

Media dasar yang digunakan adalah media *Murashige* dan *Skoog* (MS) ditambah dengan sukrosa 30g/L dan agar 8 g/L. Media dasar MS tersebut kemudian diperkaya dengan kombinasi Zat Pengatur Pertumbuhan (ZPT) dengan konsentrasi bervariasi sesuai dengan perlakuan sebagai berikut :

- Ak1 = merupakan media MS yang tidak diperkaya dengan ZPT (kontrol).
- Ak2 = merupakan media MS yang diperkaya dengan 1 mg/L GA4, 3 mg/L BAP dan 0,1 mg/L NAA,
- Ak3 = merupakan media MS yang diperkaya dengan 2 mg/L BAP dan 0,2 mg/L IBA.

Komposisi media pada Ak2 merupakan media terbaik berdasarkan hasil penelitian pendahuluan yang diujikan pada akasia murni yang dilakukan oleh Putri (2008, tidak dipublikasikan). Komposisi media pada Ak3 merupakan media terbaik untuk acacia hibrid berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Ahmad (1991). Sebagai sumber karbon, ditambahkan sukrosa 30 g/l dan agar 8 g/l sebagai pemadat. Media disterilisasi dengan *autoclave* pada suhu 121°C tekanan 1 atm. selama 20 menit.

C. Persiapan eksplan

Eksplan diambil dari semai umur 3-4 bulan dengan memotong setiap semai sebanyak 2 nodus dan 1 pucuk. Eksplan yang telah dipotong segera disterilisasi dengan cara direndam dalam alkohol 70% selama kurang lebih 1 menit, kemudian direndam dalam larutan NaClO 1% selama 15 menit dan dibilas dengan air destil sebanyak 3 kali. Eksplan yang telah disterilkan kemudian dikeringanginkan dalam petridish. Eksplan yang telah kering angin siap ditanam/ kultur pada media yang telah disediakan di dalam *lamina air flow*. Kultur kemudian diinkubasi di dalam ruang inkubasi dengan suhu 24ºC, kelembaban 60-70% serta periode penyinaran/ pencahayaan 16 jam di bawah lampu *fluorescence* putih TLD 40 Watt.

D. Rancangan penelitian

Enam (6) semai acacia hibrid (Hb1-Hb6), 3 semai *A. mangium* (Am1-Am3) dan 3 semai *A. auriculiformis* (Au1-Au3) digunakan sebagai eksplan. Masing-masing semai diambil 3 eksplan sebagai ulangan. Media tumbuh yang digunakan adalah media MS dengan variasi ZPT sebagai perlakuan yaitu Ak1 (kontrol), Ak2 dan Ak3 dengan jumlah ulangan 3. Sehingga jumlah eksplan yang diperlukan seluruhnya adalah 324 eksplan.

E. Parameter yang diukur

Parameter yang diukur adalah waktu kemunculan tunas (*bud breaking*), jumlah tunas, panjang tunas dan jumlah daun pada berbagai variasi media. Pengamatan dilakukan setiap hari sampai hari ke-40 setelah transfer eksplan. Subkultur dilakukan pada hari ke-20 dengan komposisi media sama sesuai dengan perlakuan. Hasil pengamatan parameter pada acacia hibrid dibandingkan dengan acacia murni.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

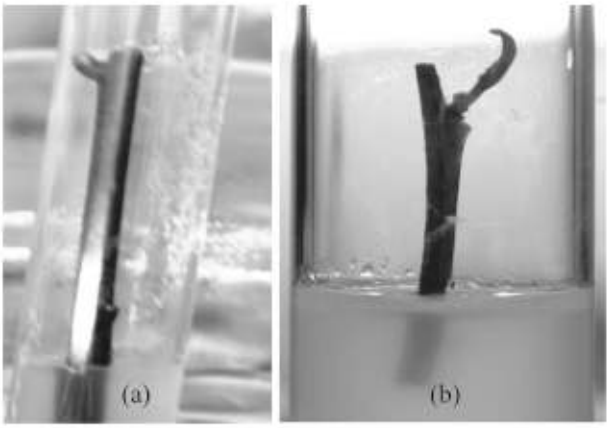
1. Kemunculan tunas (*bud breaking*)

Kemunculan tunas pertama kali (*bud breaking*) pada berbagai media tumbuh disajikan pada Tabel 1.

Kemunculan tunas pertama kali (*bud breaking*) pada acacia hibrid lebih cepat 15 hari dibandingkan dengan pada Acacia murni, yaitu pada hari ke-5 setelah transfer *in-vitro*. *Bud breaking* pada Acacia hibrid maupun pada Acacia murni paling cepat terjadi pada eksplan yang ditanam pada media Ak2, yaitu media MS yang diperkaya dengan ZPT BAP (3 mg/l) , NAA (0,1 mg/l), GA4 (1 mg/l). Gambar 1 adalah salah satu contoh tunas yang pertama kali muncul pada acacia hibrid dan Acacia murni pada media Ak2.

2. Jumlah tunas

Rata-rata jumlah tunas pada setiap eksplan acacia hibrid dan acaacia murni di berbagai media tumbuh, disajikan dalam Tabel 2.



Gambar 1. Tunas pada acacia murni (a) yang muncul pada hari ke-20 dan tunas acacia hibrid yang muncul pada hari ke-5 (b) pada media Ak2.(Foto: Putri, 2009)

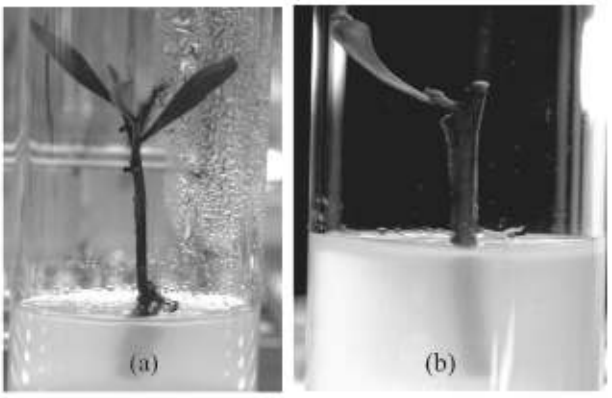
Tabel 1. Waktu kemunculan tunas pertama kali (*bud breaking)* pada berbagai media tumbuh

Jenis tanaman	Jenis media	Jumlah total kumulatif kemunculan tunas pada eksplan									Keterangan
		Waktu (hari setelah transfer)									
		0	5	10	15	20	25	30	35	40	
A. mangium (Am1-Am3)	Ak1	-	-	-	-	5	5	8	9	11	28 dari 81eksplan terkontaminasi
	Ak2	**-**	**-**	**-**	**-**	**9**	**11**	**24**	**27**	**29**	
	Ak3	-	-	-	-	5	7	12	13	13	
	Total	-	-	-	-	19	23	44	49	53	
A. auriculiformis (Au1-Au3)	Ak1	-	-	-	-	2	3	4	7	9	39 dari 81 eksplan terkontaminasi
	Ak2	**-**	**-**	**-**	**-**	**7**	**10**	**16**	**19**	**27**	
	Ak3	-	-	-	-	2	3	6	7	11	
	Total	-	-	-	-	11	16	26	33	42	
Acacia hibrid (Hb1-Hb6)	Ak1	-	3	8	8	9	9	13	13	13	25 dari 162 eksplan terkontaminasi
	Ak2	**-**	**11**	**23**	**37**	**41**	**46**	**55**	**65**	**75**	
	Ak3	-	7	18	21	28	28	30	44	49	
	Total	-	21	49	66	78	83	98	122	137	

Tabel 2. Rata-rata jumlah tunas setiap eksplan pada acacia hibrid dan acacia murni di berbagai media

Jenis tanaman	Rata-rata jumlah tunas			
	Media Ak 1 (kontrol)	Media Ak 2	Media Ak 3	Rata-rata jumlah tunas secara keseluruhan
A. mangium	1	6	2	3
A. auriculiformis	1	7	1	3
Acacia hibrid	2	15	4	7

Keterangan : Ak1 =Media MS tanpa penambahan ZPT (kontrol).
Ak2 = Media MS dengan penambahan ZPT BAP (3 mg/l) , NAA (0,1 mg/l), GA4 (1 mg/l).
Ak3 = Media MS dengan penambahan ZPT BAP (2 mg/l) , IBA (0,2 mg/l).



Gambar 2. Salah satu contoh perbandingan jumlah tunas pada acacia hibrid (a) dan acacia murni (b) pada media Ak2 (Media MS dengan penambahan ZPT BAP (3 mg/l), NAA (0,1 mg/l), GA4 (1 mg/l)) (Foto: Putri, 2009)

Rata-rata jumlah tunas paling banyak adalah eksplan yang ditanam pada media Ak 2, yaitu media MS yang diperkaya dengan ZPT BAP (3 mg/l) , NAA (0,1 mg/l), GA4 (1 mg/l). Gambar 2 adalah salah satu contoh jumlah tunas pada acacia hibrid dan acacia murni pada media Ak2.

3. Panjang tunas

Rata-rata panjang tunas pada acacia hibrid dan acacia murni di berbagai media tumbuh, disajikan dalam Tabel 3.

Rata-rata panjang tunas paling besar adalah eksplan yang ditanam pada media Ak2, yaitu media MS yang diperkaya dengan ZPT BAP (3 mg/l) , NAA (0,1 mg/l), GA4 (1 mg/l). Gambar 2 di samping adalah salah satu contoh perbandingan panjang tunas pada acacia hibrid dan acacia murni pada media Ak2.

4. Jumlah daun

Rata-rata jumlah daun pada acacia hibrid dan acacia murni di berbagai media tumbuh, seperti disajikan dalam Tabel 4.

Tabel 3. Rata-rata panjang tunas pada acacia hibrid dan acacia murni di berbagai media

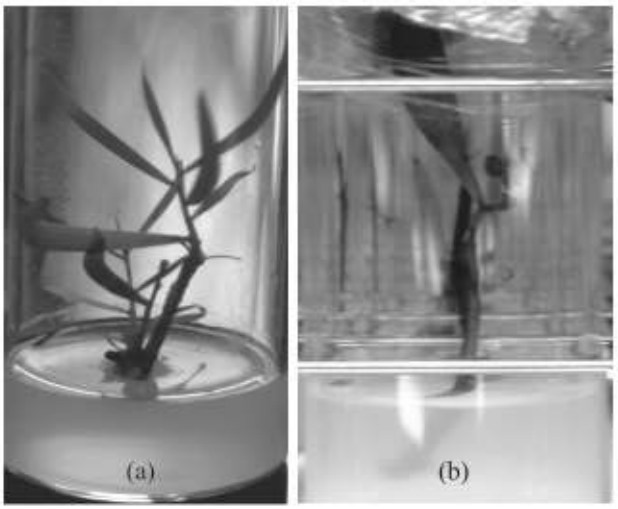
Jenis tanaman	Panjang tunas rata-rata			
	Media Ak 1 (kontrol)	Media Ak 2	Media Ak 3	Rata-rata panjang tunas secara keseluruhan
A. mangium	0,45	1,8	0,7	0,98
A. auriculiformis	0,35	1,6	0,7	0,88
Acacia hibrid	0,5	3,8	1,4	1,9

Tabel 4. Rata-rata jumlah daun pada acacia hibrid dan acacia murni di berbagai media

Jenis tanaman	Rata-rata jumlah daun			
	Media Ak 1 (kontrol)	Media Ak 2	Media Ak 3	Rata-rata jumlah daun secara keseluruhan
A. mangium	1,00	1,22	1,17	1,13
A. auriculiformis	1,00	1,78	1,44	1,41
Acacia hibrid	2,00	7,94	5,69	5,21

Keterangan : Ak1 = Media MS tanpa penambahan ZPT (kontrol).
Ak2 = Media MS dengan penambahan ZPT BAP (3 mg/l) , NAA (0,1 mg/l), Ga4 (1 mg/l).
Ak3 = Media MS dengan penambahan ZPT BAP (2 mg/l) , IBA (0,2 mg/l).

Rata-rata jumlah daun paling banyak adalah eksplan yang ditanam pada media Ak2, yaitu media MS yang diperkaya dengan ZPT BAP (3 mg/l) , NAA (0,1 mg/l), GA4 (1 mg/l). Gambar 3, 4 dan 5 adalah salah satu contoh perbandingan jumlah daun pada acacia hibrid dan acacia murni pada media Ak2.



Gambar 3. Salah satu contoh perbandingan jumlah daun pada acacia hibrid (a) dan acacia murni (b) pada media Ak2 (Media MS dengan penambahan ZPT BAP (3 mg/l) , NAA (0,1 mg/l), GA4 (1 mg/l)).(Foto: Putri, 2009)

B. Pembahasan

1. Inisiasi tunas acacia hibrid

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa kemunculan tunas (*bud breaking*) pada acacia hibrid (*Acacia mangium* x *A. auriculiformis*) lebih cepat 15 hari dibandingkan pada acacia murni (Tabel 1). Selain pemunculan tunasnya lebih cepat, rata-rata jumlah tunas juga lebih banyak (7 tunas), demikian pula rata-rata panjang tunas (1,9 cm) dan rata-rata jumlah daun (5,21 daun).

Kemunculan tunas pertama kali (*bud breaking*) pada meristem aksiler menandakan kemampuan inisiasi suatu eksplan (De berg & Maene, 1981; Ammirato, 1999). Kecepatan kemunculan tunas pertama kali sangat dipengaruhi oleh kemampuan beregenerasi, kondisi tingkat fisiologi dan kesehatan dari tanaman sebagai sumber eksplan (Wetherell, 1982). Kondisi tingkat fisiologi dan kemampuan untuk beradaptasi serta ketahanan terhadap serangan hama/penyakit pada tanaman acacia hibrid lebih baik dibandingkan pada tanaman acacia murni, yaitu *A. mangium* dan *A. auriculiformis* (CHIA, 1993). Faktor tersebut

kemungkinan merupakan salah satu hal yang menyebabkan *bud breaking* pada acacia hibrid lebih cepat daripada acacia murni.

Selain *bud breaking* pada acacia hibrid lebih cepat, jumlah total kumulatif kemunculan tunas juga menunjukkan jumlah lebih tinggi dibandingkan acacia murni. Jumlah total kemunculan tunas pada acacia hibrid sebesar 84,57% setelah dikurangi kultur yang terkontaminasi (137 dari 162 eksplan), sedangkan pada *A. mangium* sebesar 65,43% (53 dari 81 eksplan) dan pada *A. auriculiformis* sebesar 51,85% (42 dari 81 eksplan) (Tabel 1). Hal tersebut menunjukkan bahwa inisiasi tunas pucuk acacia hibrid secara *in-vitro* lebih baik dibandingkan acacia murni.

Keunggulan acacia hibrid tersebut kemungkinan berkaitan dengan reaksi sitokinin baik endogen maupun eksogen pada acacia hibrid lebih aktif sehingga laju pembelahan sel pada meristem aksiler lebih cepat dibandingkan pada jenis acacia murni. Selain itu diduga kemampuan mensintesis auksin pada jaringan acacia hibrid lebih tinggi dibandingkan acacia murni. Demikian pula interaksi antara sitokinin dan auksin pada acacia hibrid lebih baik sehingga deferensiasi jaringan lebih optimal. Menurut Wattimena (1988), sitokinin dan auksin pada tumbuhan sangat erat kaitannya dengan proses pembelahan sel dan morfogenesis yang berpengaruh langsung pada pembentukan tunas dan perpanjangan tunas.

2. Media inisiasi tunas

Berdasarkan penelitian pendahuluan pada acacia murni, komposisi media Ak2 memberikan respon terbaik dengan kemunculan tunas pada minggu ke-3 dengan rata-rata jumlah tunas 5, rata-rata panjang tunas 1,2 dan rata-rata jumlah daun 1,0 (Putri, 2008, tidak dipublikasikan). Media Ak2 merupakan media MS yang diperkaya dengan 1 mg/L GA4, 3 mg/L BAP dan 0,1 mg/L NAA.

Komposisi media Ak3 memberikan respon terbaik untuk inisiasi tunas pada acacia hibrid dengan kemunculan tunas antara minggu ke-3 sampai dengan ke-4 dengan rata-rata panjang tunas 1,25 (Ahmad, 1991). Media Ak3 merupakan media MS yang diperkaya dengan 2 mg/L BAP dan 0,2 mg/L IBA.

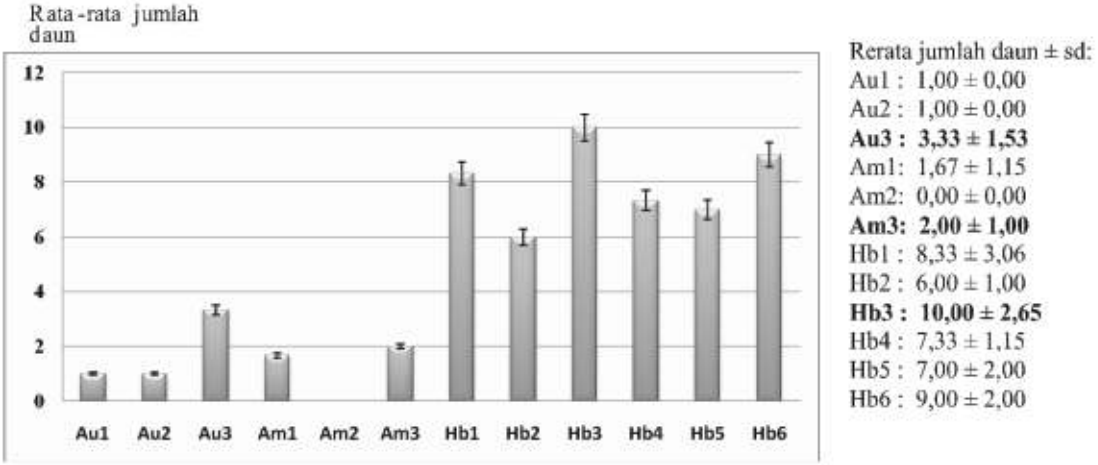
Pada penelitian ini, jumlah tunas (Tabel 2), panjang tunas (Tabel 3) dan jumlah daun (Tabel 4) dari setiap eksplan acacia hibrid dibandingkan acacia murni terhadap media Ak2, Ak3 dan kontrol menunjukkan bahwa media Ak2 memberikan respon tertinggi pada acacia hibrid yaitu kemunculan tunas pada minggu ke-1, rata-rata jumlah tunas 7, rata-rata panjang tunas 1,9 cm dan rata-rata jumlah daun 5,21. Perbandingan masing-masing parameter inisiasi tunas acacia

Tabel 5.Perbandingan tiap parameter inisiasi tunas acacia hibrid berdasarkan komposisi media

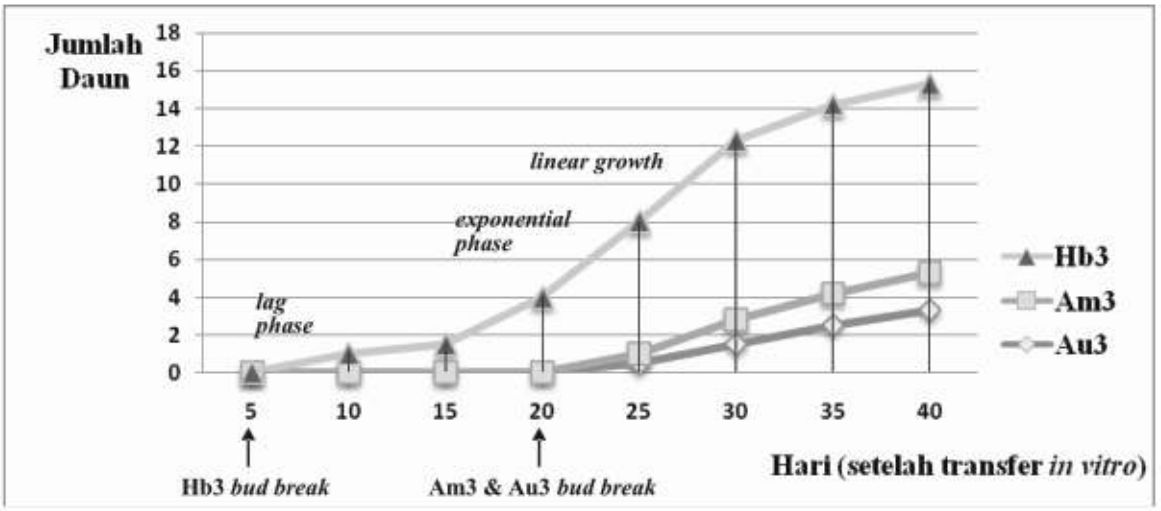
Parameter uji	Ak2 pada acacia murni (Putri, 2008)	Ak3 pada acacia hibrid (Ahmad, 1991)	Ak2 pada acacia hibrid (dalam penelitian ini)
Kemunculan tunas	minggu ke-3	minggu ke-3 s/d ke-4	minggu ke-1
Jumlah tunas	5	-	7
Panjang tunas	1,2	1,25	1,9
Jumlah daun	1,0	-	5,21

hibrid terhadap komposisi media dari hasil penelitian tersebut (Ak2 pada acacia hibrid) dengan hasil penelitian terdahulu ditunjukkan pada Tabel 5.

Berdasarkan perbandingan komposisi media pada Tabel 5 menunjukkan bahwa Ak2 memberikan respon lebih baik pada inisiasi tunas acacia hibrid dibandingkan pada acacia murni, terutama untuk kecepatan kemunculan tunas dan jumlah daun. Selanjutnya respon jumlah daun setiap jenis acacia hibrid (Hb1 - Hb6) serta acacia murni (Am1 - Am3 dan Au1 - Au3) pada media Ak2 disajikan pada Gambar 4. Rata-rata jumlah daun tertinggi acacia hibrid terjadi pada Hb3 yaitu 10,00 ± 2,65; sedangkan pada acacia murni terjadi pada Am3 yaitu 2,00 ± 1,00 dan Au3 yaitu 3,33 ± 1,53. Grafik pertumbuhan berdasarkan jumlah daun untuk Hb3, Am3 dan Au3 tersebut disajikan pada Gambar 5.



Gambar 4. Rata-rata jumlah daun pada acacia hibrid (Hb1-Hb6) dan acacia murni (*A. auriculiformis* Au1-Au3, *A. mangium* Am1-Am3) pada media Ak2 (Media MS dengan penambahan ZPT BAP (3 mg/l) , NAA (0,1 mg/l), GA4 (1 mg/l)) pada pengamatan hari ke_30 setelah transfer *in_vitro*



Gambar 5. Rata-rata jumlah daun eksplan acacia hibrid (Hb3) dan acacia murni (Am3 dan Au3) sampai dengan pengamatan hari ke-40 setelah transfer *in vitro*

Kesesuaian komposisi media dipengaruhi pula oleh umur semai tanaman sumber eksplan. Semai acacia hibrid umur 1 bulan memberikan respon terbaik pada media MS dengan ZPT BAP 0,5 mg/l (Ahmad, 1991). Hasil tersebut berbeda dengan penelitian ini yang menggunakan semai umur 4 bulan. Kondisi optimal media untuk produksi tunas secara maksimal akan berbeda sesuai umur fisiologis tanaman (Preece, 2008).

Penambahan giberellat (GA4) pada media Ak2 pada penelitian ini dimaksudkan untuk merangsang kecepatan pertumbuhan tunas dan menginduksi bagian mitotik daun (Koning, 1983; Moshkov dkk., 2008). Giberellat juga berfungsi membantu meningkatkan pemecahan amilase sehingga memacu lebih cepat pembelahan sel-sel tunas untuk tumbuh memanjang (Riley, 1987) dan sebagai mediator dalam proses pembelahan dan perbesaran sel sehingga perpanjangan tunas dapat terjadi (Jorrun *et al*., 2004).

IV. KESIMPULAN

Dari beberapa komposisi media yang digunakan, media yang paling sesuai untuk inisiasi tunas acacia hibrid adalah media MS yang diperkaya dengan Zat Pengatur Tumbuh IBA 3 mg/L, NAA 0,1 mg/L dan GA4 1 mg/L. Pertumbuhan acacia hibrid lebih baik dibandingkan dengan acacia murni pada fase inisiasi dilihat dari waktu kemunculan tunas, jumlah tunas, panjang tunas dan jumlah daun.

DAFTAR PUSTAKA

Ahmad, D. H. 1991. Micropropagation Technique for *Acacia mangium* x *Acacia auriculiformis. In*: Breeding Technologies for Tropical Acacias. L.T. Carron dan K.M. Aken (eds.). Proceeding ACIAR. No. 37. Canberra. Australia. pp. 119-121.

Ammirato, P.V., Evans, D.A., Sharp,W.R. dan Bajaj,Y.P.S. 1990. Handbook of Plant Cell Culture. Volume 5. McGraw-Hill Publishing Company. New York.

CHIA,1993. Recent Development in Acacia Improvement at Sabah Softwoods. Winrock International Institute for Agricultural Research.Bangkok.Thailand.pp.179-185.

De berg, P.C. dan Maene. 1981. A Scheme for Commercial Propagation of Ornamental Plants by Tissue Culture. Science Hortikulturae. issued 14, Elsevier Science. Amsterdam. The Nederland. pp. 335-345

Gahan, P. B. dan George, E.F. 2008. Adventitous Regeneration in Plant Propagation by Tissue Culture 3rd Edition. George,E.F., Hall,M.A. dan Geert-Jan de Klerk (eds). Volume 1. The Backforund. Springer Pub., Netherland.

Galliana, A., Chevallier,M.H., Gidiman, J., Moo, H., Hattah, M. dan Japarudin, Y. 2003. Micropropagation of *Acacia mangium* x *A. auriculiformis* hybrids in Sabah. Bois et Forêts des Tropiques. pp. 275 (1).

George E. F. dan Sherington,P.D. 1984. Plant Propagation by Tissue Culture Part 1. pp. 184 382. Exergetics Ltd. Edington. Wilts. England.

Haines, R.J., dan Griffin, A.R. 1991. Propagation Options for *Acacia mangium*, *Acacia*

auriculiformis and their Hybrid. *In*: Breeding Technologies for Tropical Acacias. L.T. Carron dan K.M. Aken (eds.). Proceeding ACIAR. No. 37. Canberra. Australia. pp. 122-126.

Hardiyanto, E.B. 1998. Approaches to Breeding Acacias for Growth and Form : The Experience at PT. Musi Hutan Persada (Barito Pasific Grup). *In* : Development in Acacias Planting. J.W. Turnbull, H.R. Cropton, K.Pinyopusarerk (eds). ACIAR Proceeding. No.82. Canberra. Australia. pp. 207-268.

Ibrahim, Z. 1993. Reproductive Biology. *In*: *Acacia mangium*. Growing and utilization. Awang, K. and Taylor, D. (eds). Winrock International and the Food and Agriculture Organization of the United Nations. Bangkok.Thailand.pp. 21-30.

Jorunn E. O., Jensen, B.J., Mölmann, A., Ernstsen, A. dan Junttila, O. 2004. Photoperiodic Regulation of Apical Growth Cessation in Northern Tree species: The Role of Phytochrome and Gibberellin. *In*: Adaptations and Responses of Woody Plants to Environmental Stresses. Rajeev Arora (ed). Food Product Press. An Imprint of The Haworth Press, Inc.

Katuuk, P. R. J. 1989. Panduan Mengajar Teknik Kultur Jaringan dalam Mikropopagasi Tanaman. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Jakarta. pp.81.

Kha, L. D. 2001. Studies on the Use of Natural Hybrids Between *Acacia mangium* and *Acacia auriculiformis* in Vietnam. Agriculture Publising House. Hanoi. pp. 5-10.

Kijkar, S. 1992. Handbook on Vegetatif Propagation of *Acacia mangium* x *A. auriculiformis*. ASEAN Canada Forest Tree Seed Center. Saraburi. Thailand.

Koning, R. 1982. Seed Germination. Biology Departement, ESCU, Willimantic, CT USA. *www.blackwell-synergy.com.*

Lynch, J. N. 1985. Origin, Nature and Biological Activity of Aliphatic Substances and Growth Hormones Found in Soil. Chapter 4 *In*: Soil Organic matter and Biological Activity. Vaughan, D and Malcolm, R.E. (eds.). The Macaulay Institute for Soil Research. Aberdeen. Scotland.

Moshkov, I. E., Novikova,G.V., Hall,M.A. dan George,E.F. 2008. Plant Growth Regulator III: Gibberellins, Ethylene, Abscisic Acid, their Analogues and Inhibitors; Miscellaneous Compounds *In*: Plant Propagation by Tissue Culture 3rd Edition. George, E.F., Hall, M.A. dan Geert-Jan de Klerk (eds). Volume 1. The Backforund. Springer Pub., Netherland.

Murashige, T. Dan F. Skoog, F. 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bio-assays with Tobacco Tissue Cultures. Physiology Plant. 15, pp.473-497.

Nikles, D.G., Hardwood, C.E., Robson, K.J., Pomroy, P.C. dan Keenan, R.J. 1998. Management and Use of Ex_situ Genetic Resources of Some Tropical Acacias Species in Queensland. *In*: Developments in Acacias planting. J.W. Turnbull, H.R. Cropton dan K.

Pinyopusarerk (eds) ACIAR Proceedings. No. 82. Canberra. Australia. pp. 184-196.

Preece, J. 2008. Stock Plant Physiological Factors Affecting Growth and Morphogenesis. *in* Plant Propagation by Tissue Culture 3rd Edition. E.F. George, M.A. Hall and Geert-Jan de Klerk (eds). Volume 1. The Backforund. Springer Pub., Netherland.

Riley, J. M. 1987. Gibberellic Acid for Fruit Set and Seed Germination. CRFG Journal, Vol. 19, pp 10-12. *www. Crfg.org.*

Wattimena, G. A. 1988. *Zat Pengatur Tumbuh Tanaman*. PAU X Bioteknologi X IPB dan LS1, Bogor. 145

Wilkins, M. B. 1989. Fisiologi Tanaman (Terjemahan). Penerbit PT. Bina Aksara, Jakarta.

Wong, C. Y dan R. J. Haines. 1991. Multiplication of families of *Acacia mangium* and *Acacia auriculiformis* by cutting from young seedlings. *In*: Breeding technologies for tropical Acacias. L.T. Carron dan K.M. Aken (eds.). Proceeding ACIAR. No. 37. Canberra. Australia. pp. 112-115.

Wetherell, D.F. 1982. Pengantar Propagasi Tanaman secara Invitro (terjemahan). IKIP Semarang Press.Semarang.