

**INISIASI TUNAS AKSILER SERTA KALUS *Toona sinensis* DAN *Toona sureni*
DENGAN SUMBER BAHAN STEK CABANG
[*Axillary Buds and Callus Initiation from Stem Cutting
of Toona sinensis and Toona sureni*]**

Asri Insiana Putri* dan Jayusman

Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan
e-mail : asriip@yahoo.co.id

ABSTRACT

The availability of source material to multifunctional tree Toona sp. have constraints for macro and micro propagation, in this regard, this study aims to: 1) observe the formation of buds on T. sinensis and T. sureni stem cuttings in an effort to sustain the availability of explants and 2) analyze the effect of GA4, IBA and BAP growth hormone on regeneration and propagation of the axillary bud initiation and callogenesis through tissue culture. Isolation of stem cuttings was conducted in a greenhouse with number of shoots per nodule and nodule distance as observed. Variables Tissue culture techniques were used to study the effect of exogenous GA4 hormones application on the initiation of axillary buds. The application of IBA hormone on plantlet rooting and callogenesis. The results showed that T. sinensis has 2-7 buds per nodule and nodule distance of 2-5 mm, while T. sureni has one bud per nodule and nodule distance of 5-10 cm. The average length of T. sinensis shoots were 15.8 cm and 17.4 for T. sureni. Enrichment with 1 mg/l GA4 gave the highest axillary shoot length on T. sinensis (8.5 cm ± 0.7228) and (9.8 cm ± 0.1022) for T. sureni. Two mg/l IBA enrichment gave the highest root length of T. sinensis (10.9 cm ± 1.8392) and for T. sureni (7.9 cm ± 0.7633). Three mg/l concentration BAP application gave the best effect in term of callus weight of T. sinensis (1.4 g ± 0.3833). Scoring of callus weight showed moderate response categories to both T. sinensis and T. sureni.

Key Words: axillary buds, callus, *Toona sinensis*, *Toona sureni*

ABSTRAK

Ketersediaan sumber bahan pohon multifungsi *Toona* sp. merupakan kendala untuk perbanyakan makro maupun mikro. Berkenaan dengan hal tersebut maka penelitian ini bertujuan untuk melakukan pengamatan pembentukan tunas stek cabang *T. sinensis* dan *T. sureni* dalam upaya menjaga keberlangsungan ketersediaan eksplan serta mengetahui pengaruh zat pengatur tumbuh GA4, IBA dan BAP terhadap kemampuan pembentukan tunas aksiler dan kalus. Isolasi stek batang dilakukan di rumah kaca. Variabel panjang tunas untuk menguji pengaruh penggunaan zat pengatur tumbuh GA4 terhadap pembentukan tunas aksiler. Variabel panjang akar untuk menguji pengaruh penggunaan zat pengatur tumbuh IBA terhadap pembentukan akar. Variabel berat kalus untuk menguji pengaruh penggunaan zat pengatur tumbuh BAP terhadap kalugenesis. Hasil tunas stek batang *T. sinensis* mempunyai 2 - 7 tunas tiap nodul dengan jarak nodul antara 2 - 5 mm sedangkan *T. sureni* hanya mempunyai 1 tunas tiap nodul dengan jarak nodul antara 5 - 10 cm. Rata-rata panjang tunas 15,8 cm untuk *T. sinensis* dan 17,4 cm untuk *T. sureni*. Pengayaan hormon pertumbuhan GA4 dengan konsentrasi 1 mg/l menghasilkan respon panjang tunas tertinggi untuk *T. sinensis* (8,5 cm ± 0,7228) maupun untuk *T. sureni* (9,8 cm ± 0,1022), sedangkan pengayaan hormon IBA dengan konsentrasi 2 mg/l menghasilkan respon panjang akar tertinggi untuk *T. sinensis* (10,9 cm ± 1,8392) maupun untuk *T. sureni* (7,9 cm ± 0,7633). Skoring inisiasi tunas aksiler dan perakaran menunjukkan kategori respon baik untuk *T. sinensis* maupun *T. sureni*. Konsentrasi BAP 3 mg/l memberikan pengaruh terbaik pada rata-rata berat kalus *T. sinensis* yaitu 1,4 gr ± 0,3833. Skoring berat kalus termasuk pada kategori moderat untuk *T. sinensis* maupun *T. sureni*.

Kata kunci: tunas aksiler, kalus, *Toona sinensis*, *Toona sureni*

I. PENDAHULUAN

Persiapan dan ketersediaan sumber eksplan menjadi syarat utama keberhasilan inisiasi dan regenerasi budidaya jaringan. Deberg dan Maene (1981) mengelompokkan tersendiri fase tersebut sebagai fase awal yaitu penyiapan tanaman sumber eksplan. Fase tersebut merupakan fase penting dalam perbanyakan budidaya jaringan dan memerlukan metode yang berbeda untuk setiap spesies. Fase ini dilakukan dengan melakukan isolasi tanaman sumber eksplan di rumah kaca diantaranya untuk mengetahui sifat fisiologi dan morfologi juvenil tanaman, di samping untuk melindungi dari hama penyakit (George and Debergh, 2008).

Hambatan perbanyakan *Toona* sp. secara konvensional ditengarai berhubungan dengan sifat fisiologis tanaman. Penggunaan biji suren segar untuk bibit mempunyai kendala harus segera ditanam karena bersifat rekalsitran. Pengeringan biji terkendala dengan musim, dan penyimpanan biji suren dalam ruang pendingin hanya bertahan selama 3 bulan. Waktu dan penurunan mutu biji selama penyimpanan dapat menjadi kendala kuantitas dan kualitas bibit (Xiao-hong *et al.*, 1999; Dirr & Heuser, 1987). Stek pucuk maupun stek akar *T. sinensis* mempunyai koefisien perbanyakan yang rendah, pertumbuhan yang lambat terutama untuk varietas liar dan kesulitan dalam pemeliharaan galur murninya (Bingkun *et*

al., 2006; Xiao-hong *et al.*, 1999). Stek pucuk *T. sinensis* mempunyai persen jadi 10-65 % (Djam'an, 2002; Collins & Walker, 2006).

Berdasarkan asal jaringan tanaman sebagai sumber bahan untuk perbanyakan *in vitro* dapat dibedakan dari bagian terminal atau tunas aksiler dan dari tunas adventif atau embrio. Plantlet dapat dihasilkan dari budidaya meristem melalui tunas aksiler tunggal atau jamak, dari budidaya nodul tunggal atau jamak dan dari jaringan somatik melalui morfogenesis langsung melalui tunas adventif atau secara tidak langsung melalui kalus. Pemisahan tunas aksiler untuk pengakaran atau sub budidaya lebih mudah dilakukan pada spesies yang secara alam menghasilkan tunas yang panjang dibandingkan bentuk roset. Semakin banyak nodul yang dihasilkan dari nodul tunggal maupun jamak hasil bahan tanaman dari alam atau hasil sub budidaya maka kemungkinan mendapatkan plantlet akan lebih tinggi. Kalus dengan potensi morfogenik yang berbeda seringkali berasal dari eksplan tunggal, dapat berupa kalus berakar, kalus bertunas, kalus non-morfogenik atau kalus embriogenik (George & Deberg, 2008).

Pada perbanyakan budidaya jaringan *Eucalyptus* lebih menguntungkan melakukan induksi satu cabang pohon induk yang mempunyai satu atau lebih tunas (nodul cabang) (George & Deberg, 2008).

Perbanyak budidaya jaringan dari bahan eksplan bagian apeks jenis *Sitka Spruce* hasil beberapa sub budidaya lebih tinggi dibandingkan dari bahan eksplan bagian tunas aksiler (John & Murray, 1981). Budidaya nodul lebih digunakan untuk perbanyak dibandingkan untuk pemanjangan tunas seperti pada jenis *Alstroemeria*, terutama bila terdapat kendala stimulasi induksi tunas dan kalus walaupun sitokinin tersedia (George & Deberg, 2008). *Toona* sp. di alam dapat tumbuh dengan tinggi bebas cabang 25 m dari ketinggian pohon sekitar 50 m. Seperti halnya di alam, *Toona* sp. pada hasil semai biji membentuk percabangan tunggal. Dari hasil penelitian menunjukkan pertumbuhan stek *Toona sinensis* dari bahan stek yang tua hanya mampu memproduksi pucuk dengan baik selama dua minggu setelah tanam, kemudian mati karena akarnya tidak tumbuh. Kesulitan penumbuhan akar juga terjadi pada penumbuhan budidaya zygotik surian (Hidayat, 2008), prosentase tumbuh akar berkurang dari 77,8% pada sub budidaya pertama menjadi 25% pada sub budidaya kedua. Pertumbuhan tunas hasil stek cabang *Toona* sp. berkaitan dengan sumber bahan budidaya jaringan belum banyak dilaporkan.

Konsentrasi hormon pertumbuhan di setiap fase inisiasi dan regenerasi pada budidaya jaringan yang tepat pada *Toona* sp. belum sepenuhnya diketahui, demikian juga untuk karakteristik setiap tahap fisiologis,

genetis maupun morfologi secara lengkap. Keseimbangan hormon pertumbuhan sitokinin dan auksin mempunyai spesifikasi tertentu pada setiap spesies tanaman serta penting untuk mengatasi masalah rendahnya laju pembelahan dan pemanjangan sel pada meristem pucuk, inisiasi tunas dan diferensiasi jaringan (George and Sherington, 1984; Wilkins, 1989). Karakteristik setiap tahap fisiologis, genetis maupun morfologi memberikan informasi penting secara sistematis (Christianson & Warnick, 1985).

Sifat pertumbuhan juvenil tanaman sebagai sumber eksplan hasil regenerasi vegetatif makro (stek cabang) dan pengaruhnya terhadap inisiasi, regenerasi serta perbanyak budidaya jaringan pada *Toona* sp. belum banyak dilaporkan. Penelitian ini bertujuan melakukan pengamatan pembentukan tunas stek batang *T. sinensis* dan *T. sureni* dalam upaya menjaga keberlangsungan ketersediaan eksplan serta untuk mengetahui pengaruh hormon pertumbuhan GA4, IBA dan BAP terhadap sifat regenerasi dan perbanyakannya pada inisiasi tunas aksiler maupun kalugeneses.

II. BAHAN DAN METODE

A. Tempat dan waktu pelaksanaan

Penelitian ini dilakukan di laboratorium budidaya jaringan dan rumah kaca di Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan, Yogyakarta. Penelitian ini merupakan rangkuman pengamatan yang dilakukan selama 3 tahun (dari tahun 2009 hingga 2011), mulai dari penyiapan materi sumber eksplan melalui stek batang di rumah kaca sampai dengan terbentuk planlet di ruang budidaya.

B. Bahan dan alat penelitian

Materi tanaman yang digunakan adalah stek cabang *Toona sinensis* dari Temanggung, Jawa Tengah, dan *Toona sureni* dari pulau Lombok, Nusa Tenggara Barat. Sumber bahan untuk budidaya jaringan menggunakan tunas stek suren. Bahan pendukung lainnya adalah pasir semi steril, pupuk, *novalgrow*[®] pestisida dan fungisida untuk menjaga kesehatan stek tanaman di rumah kaca di samping bahan media Murashige & Skoog (MS), hormon GA4, IBA, BAP serta bahan antimikrobia untuk budidaya jaringan diantaranya alkohol dan klorox.

C. Metode Penelitian

1. Penelitian bersifat kuantitatif meliputi pembentukan tunas pada stek cabang serta panjang tunas aksiler, panjang akar dan berat kalus pada budidaya jaringan.
2. Data kuantitatif yang diperoleh ditampilkan dalam bentuk tabel dan

dibahas secara deskriptif. Pengamatan morfologis kalus diamati secara visual. Hasil pengamatan didokumentasikan dengan menggunakan kamera digital Sony Carl Zeiss 14,1 MP.

3. Isolasi stek cabang dilakukan di dalam rumah kaca dengan menggunakan fungisida, pemacu tunas *novalgrow*[®] dengan zat aktif IBA 1 ml/l. Menggunakan media pasir yang telah dilakukan pemanasan dengan air 100 °C, tanpa analisa mikrobial pada bak ukuran 75 cm x 300 cm, dengan jarak 5 cm antar cabang. Jumlah sampel yang digunakan sebanyak 150 potongan cabang. Kelembaban dijaga dengan penyungkupan bak dengan bambu dan plastik.
4. Rancangan inisiasi tunas aksiler adalah menggunakan media dasar MS (Murashige *et al.* 1962) dengan perlakuan *gibberellat* (GA4) 0.5 mg/l (P1), 1 mg/l (P2) dan 1,5 mg/l (P3). Transfer eksplan dari tunas stek batang pada media inisiasi tunas aksiler dilakukan dengan 10 tahap penanaman masing-masing 25 ulangan. Inkubasi kultur dilakukan pada suhu 24°C, kelembaban 60-70% serta periode pencahayaan 16 jam dengan lampu *fluorescence* putih TLD 40 Watt.
5. Rancangan inisiasi perakaran adalah menggunakan media untuk perakaran ½ MS dengan perlakuan *indolebutiricacid* (IBA) 1 mg/l (A1), 2 mg/l (A2) dan 3 mg/l (A3). Inisiasi tunas aksiler yang

bebas dari kontaminasi dilanjutkan untuk uji perakaran sampai terbentuk planlet. Inkubasi kultur dilakukan pada suhu 24°C, kelembaban 60-70% serta periode pencahayaan 16 jam dengan lampu *fluorescence* putih TLD 40 Watt. Planlet ini digunakan sebagai sumber eksplan untuk inisiasi kalus.

- Rancangan inisiasi kalus adalah dengan menggunakan media dasar awal MS dan *3,6-dichloro-2-methoxybenzoic acid* (Dicamba) 20 mg/l selama 5 kali subkultur dengan waktu 30 hari setiap subkultur. Media kedua adalah tanpa Dicamba dengan perlakuan BAP 1 mg/l (K1), 2 mg/l (K2) dan 3 mg/l (K3) untuk subkultur kalus selama 5 kali subkultur dengan waktu 30 hari setiap subkultur. Kultur inisiasi kalus terbaik selanjutnya dipergunakan untuk multiplikasi kalus. Eksplan yang digunakan pada inisiasi kalus adalah dari bagian petiole daun planlet. Inkubasi kalus dilakukan di ruang gelap.
- Rancangan analisa statistik pada penelitian ini hanya dilakukan pada tahap inisiasi tunas aksiler, inisiasi perakaran dan inisiasi kalus. Percobaan terdiri dari 1 faktor perlakuan yaitu zat pengatur tumbuh GA4 untuk tunas aksiler, zat pengatur tumbuh IBA untuk perakaran dan zat pengatur tumbuh BAP untuk inisiasi kalus. Rancangan percobaan didekati dengan rancangan acak lengkap.

Dilakukan melalui 3 tahap penanaman dengan 75 ulangan untuk *T. sinensis* dan *T. sureni*, sehingga keseluruhan diperoleh 450 satuan tabung kultur percobaan. Sepuluh (10) tabung kultur terbaik dari masing-masing perlakuan digunakan sebagai sampel untuk pengukuran. Data hasil penelitian dianalisis dengan sidik ragam dengan model linear sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + P_i + T_j + E_{ij}$$

Keterangan:

Y_{ij} : nilai pengamatan pada komposisi hormon ke-i, tahap ke-j

μ : nilai tengah rata-rata pengamatan

P_i : efek komposisi hormon ke i

T_j : efek tahap ke-j

E_{ij} : galat pada komposisi hormon ke i dan tahap ke j

Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis menggunakan Sidik Ragam (Anova) pada tingkat ketelitian 95 % dan apabila ada pengaruh nyata dilakukan uji beda nyata Duncan dengan jenjang nyata (α) 5 %.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian

Hasil penelitian inisiasi tunas aksiler serta kalus *toona sinensis* dan *toona sureni* dengan sumber bahan stek cabang adalah sebagai berikut:

- Tunas stek cabang *T. sinensis* dan *T. sureni* sebagai sumber bahan eksplan.

Pada penelitian ini tunas melalui stek cabang sebagai sumber bahan eksplan tanpa perlakuan konsentrasi hormone. Berdasarkan hasil pengamatan menunjukkan 100 % stek cabang tumbuh tunas. Jumlah tunas dan jarak antar nodul dalam tunas adalah sebagai berikut:

a. Jumlah tunas

Jumlah tunas setiap nodul pada *T. sinensis* berbeda dengan *T. sureni* (Gambar 1). *T. sinensis* mempunyai 2 - 7 tunas tiap nodul sedangkan *T. sureni* mempunyai 1 tunas tiap nodul (Gambar 1).



A



B

Gambar 1. Tunas stek batang *T. sinensis* (A) dan *T. sureni* (B) sebagai sumber eksplan.

b. Jarak antar nodul

Jarak antar nodul pada *T. sinensis* adalah antara 0,2 – 0,5 cm sedangkan jarak antar nodul pada *T. sureni* adalah antara 5 - 10 cm. Jarak antara mata tunas pada batang stek dengan nodul terbawah *T. sinensis* sangat pendek seperti menempel pada batang, sedangkan pada *T. sureni* mempunyai jarak lebih panjang sekitar 10 -15 cm dari batang stek (Gambar 2).



Gambar 2. Jarak nodul pada tunas stek batang *T. sinensis* (A) dan *T. sureni* (B) sebagai sumber eksplan.

2. Pengaruh GA4 terhadap panjang tunas pada inisiasi tunas aksiler *T. sinensis* dan *T. sureni*.

Hasil analisis sidik ragam pengaruh GA4 terhadap rata-rata panjang tunas pada Tabel 1 sedangkan hasil uji beda nyata pada Tabrl 2.

Tabel 1. Analisis sidik ragam pengaruh GA4 terhadap rata-rata panjang tunas.

Perlakuan	df	JK	KT	Nilai P
P	2	17.0170	248.3510	0.0001
Galat	89	0.0690		
Total	90			

P = perlakuan GA4

Tabel 2. Uji beda nyata pengaruh GA4 terhadap rata-rata panjang tunas.

Spesies	Perlakuan	Rata-rata panjang tunas (cm ± SE)
<i>T. sinensis</i>	P1	6,9 ± 0,7461 ^a
	P2	8,5 ± 0,7228 ^b
	P3	7,9 ± 0,1836 ^b
<i>T. sureni</i>	P1	7,7 ± 0,0300 ^c
	P2	9,8 ± 0,1022 ^d
	P3	9,1 ± 0,3828 ^e

Keterangan: P1 = GA4 0,5 mg/l
P2 = GA4 1 mg/l
P3 = GA4 1,5 mg/l

3. Pengaruh IBA terhadap panjang akar pada inisiasi perakaran *T. sinensis* dan *T. sureni*.

Hasil analisis sidik ragam pengaruh IBA (A) terhadap rata-rata panjang akar pada Tabel 3 sedangkan hasil uji beda nyata pada Tabel 4.

Tabel 3. Analisis sidik ragam pengaruh IBA terhadap rata-rata panjang akar.

Perlakuan	df	JK	KT	Nilai P
A	2	1,2320	25,6960	0,0001
Galat	89	0,0480		
Total	90			

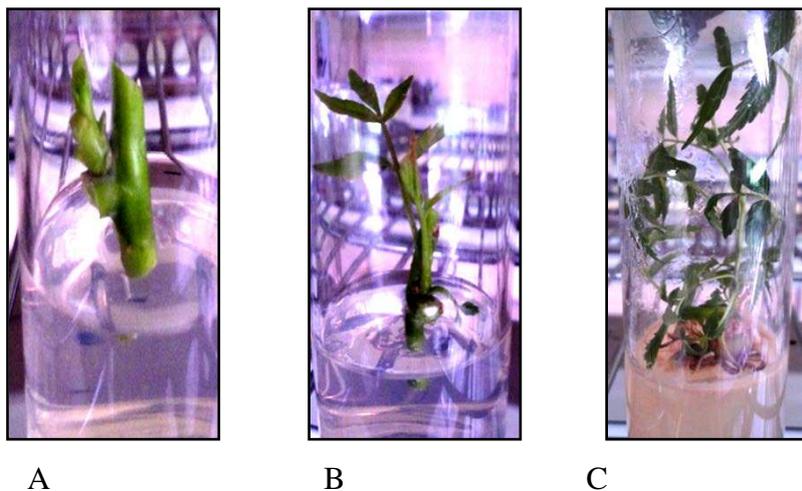
A = perlakuan IBA

Tabel 4. Uji beda nyata pengaruh IBA terhadap rata-rata panjang akar.

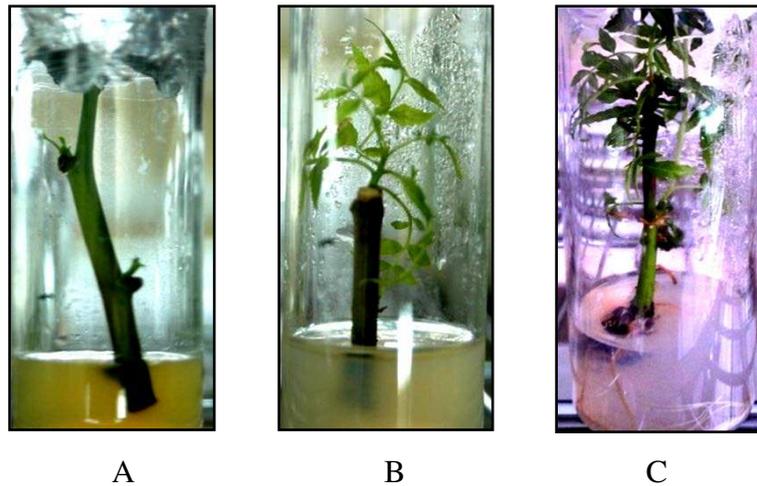
Spesies	Perlakuan	Rata-rata panjang akar (cm ± SE)
<i>T. sinensis</i>	A1	7,4 ± 0,3872 ^a
	A2	7,8 ± 1,8392 ^b
	A3	7,7 ± 0,2845 ^b
<i>T. sureni</i>	A1	7,3 ± 0,3874 ^a
	A2	7,9 ± 0,7633 ^c
	A3	7,8 ± 0,3876 ^c

Keterangan: A1 = IBA 1 mg/l
A2 = IBA 2 mg/l
A3 = IBA 3 mg/l

Inisiasi tunas aksiler, pemanjangan tunas dan pembentukan plantlet ditunjukkan pada Gambar 3 untuk *T. sinensis* dan Gambar 4 untuk *T. sureni*.



Gambar 3. Inisiasi tunas aksiler eksplan *T. sinensis* melalui, inisiasi tunas (A), pemanjangan tunas (B) dan plantlet (C).



Gambar 4. Inisiasi tunas aksiler eksplan *T. sureni* melalui inisiasi tunas (A), pemanjangan tunas (B) dan plantlet (C).

4. Pengaruh BAP terhadap berat kalus pada inisiasi kalus *T. sinensis* dan *T. sureni*. tunas pada Tabel 5 sedangkan hasil uji beda nyata pada Tabel 6.
Hasil analisis sidik ragam pengaruh BAP (K) terhadap rata-rata panjang

Tabel 5. Analisis sidik ragam pengaruh BAP terhadap rata-rata berat kalus.

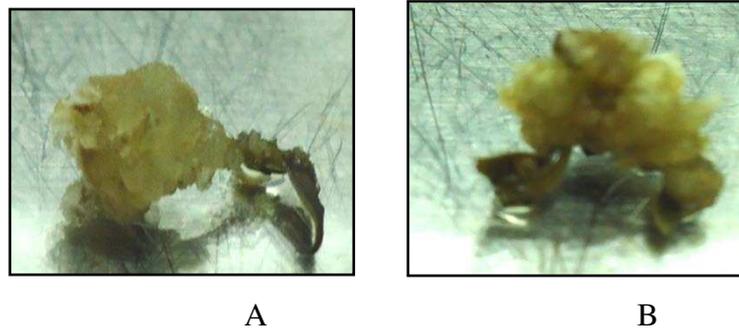
Perlakuan	df	JK	KT	Nilai P
K	2	1,232	25,696	0,0001
Galat	89	0,048		
Total	90			

Tabel 6. Pengaruh BAP terhadap rata-rata berat kalus.

Spesies	Perlakuan	Rata-rata berat kalus (gr ± SE)	Persentase pembentukan kalus (%)
<i>T. sinensis</i>	K1	0,7 ± 0,3712 ^a	22,8
	K2	0,8 ± 0,1254 ^a	36,0
	K3	1,4 ± 0,3833 ^b	42,9
<i>T. sureni</i>	K1	0,9 ± 0,4176 ^a	25,4
	K2	1,5 ± 0,2238 ^b	33,9
	K3	1,5 ± 0,8131 ^b	25,7

Keterangan: K1 = BAP 1 mg/l
K2 = BAP 2 mg/l
K3 = BAP 3 mg/l

Inisiasi kalus pada eksplan daun *T. sinensis* dan *T. sureni* ditunjukkan pada Gambar 5.



Gambar 5. Inisiasi kalus pada eksplan daun *T. sinensis* (A) dan *T. sureni* (B).

Pembahasan

1. Tunas stek batang *T. sinensis* dan *T. sureni* sebagai bahan sumber eksplan.

Materi sumber eksplan yang secara fisiologis telah lengkap dari daun, batang dan akar akan meningkatkan persentase keberhasilan pembentukan planlet pada perbanyakan budidaya jaringan (Putri, 2010). Pada penelitian ini pengambilan eksplan dilakukan setelah stek cabang lengkap membentuk tunas dan akar. Pembentukan akar stek batang *T. sinensis* maupun *T. sureni* terjadi rata-rata setelah 3 bulan penanaman. Akar muncul setelah terbentuk tunas pucuk dengan rata-rata panjang tunas 15,8 cm untuk *T. sinensis* dan 17,4 cm untuk *T. sureni*.

Perbedaan panjang tunas tersebut sangat berpengaruh pada jumlah eksplan yang didapat. Semakin panjang dan semakin banyak tunas pada satu nodul cabang stek, semakin banyak materi

eksplan yang didapat; dan ini akan sangat menguntungkan dilihat dari ketersediaan materi eksplan tunas pucuk.

Namun demikian pendeknya jarak antar nodul pada stek cabang seperti pada *T. sinensis* menyebabkan tingginya jumlah eksplan yang mengalami *browning* (perubahan warna coklat pada media, bersifat racun mematikan jaringan eksplan) di media budidaya jaringan, sehingga keberhasilan inisiasi tunas pucuk lebih rendah. Hal ini ditengarai dengan lebih tingginya senyawa fenol penyebab *browning* yang tinggi pada jaringan nodul. Sangat pendeknya jarak nodul pada stek batang *T. sinensis* juga berpengaruh pada waktu inisiasi tunas pucuk budidaya jaringan (kedini inisiasi).

2. Pengaruh GA4 terhadap panjang tunas pada inisiasi tunas aksiler *T. sinensis* dan *T. sureni*.

Berdasarkan Tabel 2, pengayaan zat pengatur tumbuh pertumbuhan GA4 dengan konsentrasi 1 mg/l mempunyai respon panjang tunas tertinggi untuk *T. sinensis* (8,5 cm ± 0,7228) maupun untuk *T. sureni* (9,8 cm ± 0,1022). Hasil analisis sidik ragam menunjukkan perbedaan nyata pengaruh GA4 terhadap inisiasi tunas aksiler pada *T. sinensis* dan *T. sureni*. Perlakuan P2 (1 mg/l) tidak berbeda nyata dengan P3 (1,5 mg/l) pada *T. sinensis*, sehingga GA4 sudah cukup berpengaruh dengan konsentrasi sampai 1 mg/l. Namun demikian penambahan konsentrasi GA4 masih memungkinkan untuk meningkatkan panjang tunas pada *T. sureni*.

Penambahan GA4 pada budidaya jaringan dapat merangsang kecepatan pertumbuhan tunas dan menginisiasi bagian mitotik daun (Koning, 1982; Moshkov *et al.*, 2008). GA4 membantu meningkatkan pemecahan amilase sehingga memacu lebih cepat pembelahan sel-sel tunas untuk pertumbuhan tanaman (Riley, 1987). Pemanjangan tunas merupakan konsekuensi dari dua proses dasar pertumbuhan yaitu pembelahan dan pembesaran sel, dan GA4 berperan sebagai mediator proses tersebut (Jorunn *et al.*, 2004).

Panjang tunas (*microshoots*) digunakan sebagai parameter pengamatan inisiasi tunas aksiler dari eksplan *T. sinensis* dan *T. sureni* karena menjadi salah satu faktor penentu volume pada indeks pertumbuhan tunas dan berkorelasi terhadap regenerasi sel *in-vitro* (Ahuja, 1998). Pertumbuhan eksplan dengan pengaruh hormon dapat dinyatakan berdasarkan pemanjangan tunas (*elongation*) untuk parameter eksplan *in-vitro* (Venketeswaran *et al.*, 1988).

Gambar 2 dan Gambar 3 menunjukkan perbedaan pertumbuhan tunas aksiler *in vitro* antara *T. sinensis* dan *T. sureni*. Seperti halnya pertumbuhan tunas stek cabang di rumah kaca, terdapat perbedaan jumlah tunas setiap nodul dan jarak nodul terbawah dari mata tunas pada kultur jaringannya. Hal ini juga berpengaruh pada lebih rendahnya koefisien perbanyakan *T. sinensis* dibandingkan *T. sureni* pada multiplikasi kultur. Secara umum berdasarkan skoring inisiasi tunas aksiler, pengaruh GA4 terhadap *T. sinensis* dan *T. sureni* termasuk kategori baik.

3. Pengaruh IBA terhadap panjang akar pada inisiasi perakaran *T. sinensis* dan *T. sureni*.

Berdasarkan Tabel 3, pengayaan hormon IBA untuk perakaran dengan

konsentrasi 2 mg/l mempunyai respon panjang akar tertinggi untuk *T. sinensis* ($10,9 \pm 1,8392$) maupun untuk *T. sureni* ($7,9 \pm 0,7633$). Perlakuan A1 (1 mg/l) tidak berbeda nyata dengan A2 (2 mg/l) pada *T. sinensis*. Konsentrasi A1 dan A2 terlalu rendah sehingga perbedaan tersebut belum cukup berpengaruh terhadap inisiasi perakaran, dan masih dimungkinkan penambahan konsentrasi yang lebih tinggi dari A3 untuk *T. sinensis*. Karena A2 (2 mg/l) tidak berbeda nyata dengan A3 (3 mg/l) pada *T. sureni*, maka A2 sudah cukup tinggi berpengaruh terhadap inisiasi perakaran *T. sureni*.

Mekanisme kerja IBA dalam mempengaruhi pemanjangan sel-sel tanaman adalah dengan memacu protein tertentu yang ada di membran plasma sel tumbuhan untuk memompa ion H⁺ ke dinding sel. Ion H⁺ ini mengaktifkan enzim tertentu, sehingga memutuskan beberapa ikatan silang hidrogen rantai molekul selulosa penyusun dinding sel dan memungkinkan air masuk. Sel tumbuhan, dengan demikian memanjang akibat air yang masuk secara osmosis. Setelah pemanjangan, sel terus tumbuh dengan mensintesis kembali material dinding sel dan sitoplasma (Machakova, *et al.*, 2008).

Perakaran *T. sinensis* yang lebih berkembang dengan panjang tunas yang

lebih rendah dimungkinkan karena kurang terpenuhinya nutrisi dari media budidaya jaringan atau karena tingginya senyawa fenolik menjadi hambatan dalam menyerap nutrisi dibandingkan *T. sureni*. Secara umum berdasarkan skoring inisiasi perakaran, pengaruh IBA terhadap *T. sinensis* dan *T. sureni* termasuk kategori baik.

4. Pengaruh BAP terhadap berat kalus pada inisiasi kalus *T. sinensis* dan *T. sureni*.

Berdasarkan Tabel 5, konsentrasi BAP 3 mg/l memberikan rata-rata berat kalus tertinggi pada *T. sinensis* yaitu $1,4 \text{ gr} \pm 0,3833$ maupun *T. sureni* yaitu $1,5 \pm 0,8131$. Perlakuan K2 (2 mg/l) tidak berbeda nyata dengan K3 (3 mg/l) pada *T. sinensis* maupun *T. sureni*, maka konsentrasi K2 sudah cukup tinggi berpengaruh terhadap berat kalus.

Persentase pembentukan kalus meningkat sesuai peningkatan berat kalus (Tabel 5). Inisiasi kalus terbentuk pada saat terjadi diferensiasi sel-sel epidermal dan sub epidermal daerah hipokotilar. Hasil multiplikasi kalus dapat bersifat embriogenik maupun non-embriogenik (Guedes *et al.*, 2011). Ketersediaan sumber eksplan, kecepatan multiplikasi dan keterulangan merupakan sistem penting pada kalugensis (Raemakers *et al.*, 1995). Kombinasi dengan BAP paling banyak digunakan secara ekstensif untuk

optimasi medium pada regenerasi kalus menggantikan *dimethylallylaminopurine* (2iP) yang dinilai terlalu lama masa inkubasi dan terlalu mahal (Rao *et al.* 1995; Varshney *et al.* 1997; Qu *et al.* 2002). Semakin tinggi perlakuan BAP sampai dengan konsentrasi 3 mg/l, kalus lebih friabel dengan warna putih jernih. Secara kualitatif kalus yang terbentuk pada *T. sinensis* rata-rata lebih remah dan lebih putih jernih dibandingkan pada *T. sureni* yang berwarna lebih kecoklatan dan massif (Gambar 5).

IV. KESIMPULAN

Pembentukan tunas stek cabang sebagai sumber eksplan pada *T. sinensis* menghasilkan jumlah tunas setiap nodul lebih tinggi sehingga ketersediaan eksplan dapat lebih terjaga. Namun demikian jarak nodul terbawah dengan mata tunas *T. sinensis* yang lebih pendek menurunkan keberhasilan inisiasi tunas aksiler dibandingkan dengan *T. sureni*. Inisiasi tunas aksiler serta kalugensis *Toona sinensis* dan *Toona sureni* pada perbanyakan budidaya jaringan mempunyai hasil yang berbeda. Inisiasi tunas berdasarkan panjang tunas dan panjang akar pada pembentukan plantlet *T. sureni* menunjukkan hasil yang lebih baik, sedangkan inisiasi kalus berdasarkan berat kalus menunjukkan hasil yang lebih rendah dibandingkan *T. sinensis*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada tim suren kultur jaringan atas dukungan dan bantuan yang telah diberikan di lapangan, rumah kaca maupun di laboratorium sehingga penelitian ini dapat berlangsung sesuai yang diharapkan. Terima kasih kepada tim review dan mitra bestari sehingga tulisan ini dapat tersusun dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahuja, M. R. 1998. Micropropagation a la Carte In Micropropagation of Woody Plants. M. R. Ahuja (ed.). Kluwer Academic Publisher.
- Bingkun, T., W. Pengcheng, Y. Mei, T. Xiao and Y. Yu-yun. 2002. Study on Cutting Propagation of *Toona sinensis*.
- Chester, K. S. 1959. How Sick is The Plant. J. G. H Horsfall and A. Diamond (eds.). Plant Pathology Vol: 1. Academic Press, Inc, New York.
- Christianson, M. L. and D. A. Warnick. 1985. Temporal Requirement for Phytohormone Balance in The Control of Organogenesis In Vitro. Dev. Biol. 112, 494-497.
- Collins, S. and S. Walker. 2006. Propagation of Red Cedar by Cutting. Queensland Forestry Research Institute.
- Dirr, M. A. and M. W. Heuser. 1987. The Reference Manual of Woody Plant Propagation. Athens Ga. Varsity Press. ISBN 0942375009.
- Djam'an, D. 2002. *Toona sureni* (Blume) Merr. Seed Leaflet. No. 82 Agustus 2003. Danida Forest Seed Centre.
- George, E.F. and P.C. Debergh. 2008. Micropropagation: Uses and Methods In Plant Propagation by Tissue Culture 3rd Edition. E.F. George, M.A. Hall & G-Jan De Klerk (eds.). Springer Pub. Netherland.
- George E. F. and P. D. Sherington. 1984. Plant Propagation by Tissue Culture Part 1. p 184-382. Exergetics Ltd, Edington, Wilts, England.

- Guedes R. S., T. L. da Silva, Z. G. Luis and J. E. Scherwinski-Pereira. 2011. Initial Requirements For Embryogenic Calluses Initiation In Thin Cell Layers Explants From Immature Female Oil Palm Inflorescences. *African Journal of Biotechnology* Vol.10 10 (52), pp. 10774-10780, 12 September, 2011 ISSN 1684-5315 © 2011 Academic Journals.
- Hidayat, Y. 2008. Keefektifan bahan sterilisasi dalam pengendalian kontaminasi pada pertumbuhan kultur zygotik surian (*Toona sinensis*) *Journal Wana Mukti* 6(1): 35-44.
- Jayusman, 2006. Teknik Penyiapan Bibit Surian. *Infotek* Vol.14 (1) : Juni 2006. Hal 35-43.
- Jorunn E. O., B. J. John, A. M. Jorgen, E. Arild, J. Olavi. 2004. Journal of Crop Improvement, Photoperiodic Regulation of Apical Growth Cessation in Northern Tree Species. 10 (1-2), 77 – 112.
- Koning, R. 1982. Seed Germination. Biology Departement, ESCU, Willimantic, CT USA. www.blackwell-synergy.com.
- Lemmens, R. H. M. J., I. Soerianegara, and W.C. Wong (Eds.).1995. Plant Resources of Southeast Asia 5(2) Timber trees: Minor commercial timbers. Prosea Foundation, Bogor, Indonesia, 655 pp.
- Machakova I., E. Zazimalova , E.F. George. 2008. Plant Growth Regulators I: Introduction: Auxins, their Analogues and Inhibitors *In* Plant Propagation by Tissue Culture, 3d Edition, Volume 1, The Background. E. F. George, M. A. Hall, G. De Klerk (Eds.). Springer, Netherlands, 175-204. V
- Martawidjaya, A., K. Iding, Y. I. Mandang, A. P. Soewanda, dan K. Kosasi. 1998. *Atlas Kayu Indonesia, Jilid II*. Badan Litbang Kehutanan, Bogor.
- Moshkov, I.E., G.V. Novikova, M.A. Hall and E.F George. 2008. Plant Growth Regulator III: Gibberellins, Ethylene, Abscisic Acid, their Analogues and Inhibitors; Miscellaneous Compounds *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.
- Phon D. and Pauline. 2000. Plants Used in Cambodia. Olympic Printing House; Phnom Penh, 915 pp.
- Putri, A. I. 2010. Micropropagation of *Toona sinensis* dan *Toona sureni*. Unpublished.
- Qu, Luping, Chen, Jianjn, Henny, J. Richard, Huang, Yingfeng, Caldwell, D. Russell and Robinson, A. Cynthia. 2002. Thidiazuron promotes adventitious shootregeneration from pothos (*Epipremnum aureum*) leaf and petiole explants. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, May, vol. 38, no. 3, p. 268-271.
- Raemakers, C. J. J. M., E. Jacobsen, R. G. F. Visser. 1995. Secondary somatic embryogenesis and applications in plant-breeding. *Euphytica* 81: 93-107.
- Rao, A. M., K. Padma Sree, and P. B. Kavi Kishor, 1995. Enhanced Plant Regeneration in Grain and Sweet Sorghum by Asparagine, Proline and Cefotaxime. *Plant Cell Reports*, January, vol. 15, no. 1-2, p. 72-75.
- Riley, J.M. 1987. Gibberellic Acid for Fruit Set and Seed Germination. *CRFG Journal*, Vol. 19, pp 10-12. www.Crfg.org.
- Geekiyanage, D. H. and T. D. Silva. 2005. Comparative Analysis Of Intron Regions In Grass Genomes. Proceedings of the 61st Annual Sessions of the Sri Lanka Association for the Advancement of Science. Sri Lanka.
- Varshney, A., T. Kant, and S.L. Kothari. 1997. Plant regeneration from coleoptile tissue of wheat (*Triticum aestivum*). *Biologia Plantarum*, July, vol. 40, no. 1, p.137-141.
- Venketeswaran, S., M. A. D. L. Dias, S. Sultanbawa and U. V. Weyers. 1988. Tissue Culture Studies of Mahogany Tree, *Sweitenia* *In* Somatic Cell Genetics of Woody Plants. M. R. Ahuja (ed.). Kluwer Academic Pub. Dordrecht, Boston, London.
- Wilkins, M. B., 1989. Fisiologi Tanaman (Terjemahan). Penerbit PT. Bina Aksara, Jakarta.
- Xiao-hong, Z., C. Yan-sheng, W. An-zhi, Y. Tu-xi, K. Bing, Y. Heng. 1999. Shaanxi Province and Chinese Academy of Science. Yangling, Shaanxi 712100