

**Respon Eksplan Biji Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk.) terhadap Pemberian NAA dan IBA
Secara *In Vitro*
*Effect of Plant Growth Regulator NAA and IBA on Seed Explants Agarwood (*A. malaccensis* Lamk.)
In vitro.***

Romasli Nadeak^a, Nelly Anna^b, Edy Batara Mulya Siregar^b

^aProgram Studi Kehutanan, Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara, Jl. Tri Dharma Ujung no.1
Kampus USU Medan 20155 (Penulis Korespondensi, E-mail: dearoma@ymail.com)

Abstract

*Agarwood is non-wood forest product with high number of economic because the wood has many benefits. The presence of gaharu in nature is endangered because of illegal logging and for development of agarwood needed seed quality supplying, one with tissue culture. This study aims to determine the response of seed explants *A. malaccensis* and determine the concentration of the best NAA and IBA for induction of callus. This research use Complete Random Design (RAL) with 2 Growth Regulator NAA and IBA in any concentrates with agarwood seed explants. Results showed that callus was obtained as response of agarwood seed explants with NAA and IBA and the concentrate that's have real an effect on to determine the time of callus appear with best concentrate was NAA 2 ppm dan IBA 2 ppm. Callus appear dominated by olive green and green brown color, meanwhile tekstur of callus dominated by compact node.*

Keywords: Agarwood, Callus, NAA, IBA, in vitro

PENDAHULUAN

Gaharu, yang disebut juga *agarwood*, *eaglewood* atau karas sebagai salah satu hasil hutan yang bernilai ekonomi tinggi, terjadi melalui fenomena patologis yang unik. Sampai saat ini, peningkatan permintaan akan produk gaharu belum dapat diikuti oleh adanya pasokan gaharu yang rutin karena masih bergantung dari hasil pengumpulan gaharu alami. Oleh sebab itu, banyak penelitian dilakukan untuk dapat memahami mekanisme pembentukan gaharu alami yang dapat dijadikan dasar dalam pengembangan gaharu secara *artificial* (buatan) (Santoso dkk, 2007).

ZPT (Zat Pengatur Tumbuh) yang digunakan adalah sitokinin dan auksin. Sitokinin yang digunakan *benzil amino purin* (BAP) sedang auksin yang digunakan adalah IAA (*indole acetic acid*), NAA (*naphthyl acetic acid*), ZPT ini diperlukan untuk pertumbuhan eksplan. Menurut Hendaryono dan Wijayani (1994) pembentukan kalus, jaringan kuncup dan jaringan akar ditentukan oleh penggunaan ZPT yang tepat baik macam maupun konsentrasinya. Auksin yang paling banyak digunakan adalah pada kultur *in vitro* adalah IAA, NAA dan 2,4 D. Jenis-jenis auksin lain seperti IBA juga merupakan senyawa efektif, tetapi penggunaannya tidak sebanyak ketiga auksin diatas. IBA sangat efektif untuk menginduksi perakaran (Zulkarnain, 2009).

Teknik kultur jaringan memberikan alternatif terhadap usaha perbanyak tanaman secara vegetatif dalam skala yang lebih besar dalam upaya konservasi dan pengembangan tanaman gaharu dimasa yang akan datang. Ada beberapa kelebihan yang diperoleh dari perbanyak tanaman dengan teknik kultur jaringan diantaranya adalah dapat menghasilkan tanaman yang

homogen, berkualitas tinggi, jumlah yang tidak terbatas, bebas hama dan penyakit, menghasilkan klon yang lebih unggul, dapat diperbanyak dalam waktu yang relatif singkat, tidak dibatasi oleh waktu, tetapi membutuhkan keahlian khusus (Azwin dkk 2006).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui respon eksplan *A. malaccensis* terhadap pemberian NAA dan IBA secara *in vitro*, untuk mengetahui konsentrasi ZPT terbaik terhadap respon eksplan *A. Malaccensis*, untuk mengetahui perkembangan respon yang terjadi pada biji *A. malaccensis*. Dengan hipotesis terdapat pengaruh pemberian NAA dan IBA terhadap respon biji *A. malaccensis* secara *in vitro* serta terdapat pengaruh konsentrasi NAA dan IBA yang berbeda terhadap perkembangan respon biji *A. malaccensis*.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian .Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April 2012 sampai September 2012 di Laboratorium Bioteknologi Kehutanan, Program Studi Kehutanan Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara Medan. **Bahan dan Alat Penelitian** Bahan tanaman yang digunakan sebagai eksplan adalah biji *A. malaccensis*. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini meliputi media *Murashige and Skoog* (MS) yang diberi tambahan zat pengatur tumbuh NAA dan IBA, agar, sukrosa, aquadest, sabun cuci, chlorox, spirtus, dan alkohol 70%.. Alat yang digunakan adalah botol kultur, bunsen, *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), petridish, peralatan diseksi (pinset besar, pinset kecil, dan pisau *scalpel*, timbangan analitik, plastik *prophopilen* (PP) 0,3 mm.

1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) non-faktorial dengan dua jenis ZPT, yaitu :

- a) Konsentrasi NAA ditambah BAP 1,0 ppm pada setiap perlakuan yang terdiri atas 4 taraf, yaitu :
 - B1N1 = Perlakuan dengan penambahan NAA 2 ppm + BAP 2 ppm
 - B1N2 = Perlakuan dengan penambahan NAA 4 ppm + BAP 2 ppm
 - B1N3 = Perlakuan dengan penambahan NAA 6 ppm + BAP 2 ppm
 - B1N4 = Perlakuan dengan penambahan NAA 8 ppm + BAP 2 ppm
- b) konsentrasi IBA ditambah BAP 1,0 ppm pada setiap perlakuan yang terdiri atas 4 taraf, yaitu:
 - B1I1 = Perlakuan tanpa penambahan IBA 2 ppm + BAP 2 ppm
 - B1I2 = Perlakuan dengan penambahan IBA 4 ppm + BAP 2 ppm
 - B1I3 = Perlakuan dengan penambahan IBA 6 ppm + BAP 2 ppm
 - B1I4 = Perlakuan dengan penambahan IBA 8 ppm + BAP 2 ppm

Dengan demikian diperoleh 8 kombinasi perlakuan dan masing-masing diulang sebanyak 4 kali.

2. Pelaksanaan Penelitian

- 1) Sterilisasi Alat
- 2) Pembuatan larutan stok
- 3) Pengambilan Eksplan Dari Buah dan Penanaman
- 4) Pemeliharaan

3. Pengamatan pertumbuhan kalus

Respon yang akan muncul dapat berupa kalus, akar dan tunas.

a. Kalus

Parameter pertumbuhan yang digunakan jika respon yang muncul merupakan kalus adalah:

1. Saat Muncul Kalus

Pengamatan dilakukan setiap hari dengan menghitung hari saat muncul kalus pertama kali yang dinyatakan dalam HST (hari setelah tanam). Ditandai dengan adanya pembengkakan atau munculnya jaringan berwarna putih kehijauan pada permukaan eksplan.

2. Tekstur kalus

Pengamatan perkembangan kalus dilakukan dengan cara pemberian nilai (skor) dimana kalus yang terbentuk dibagi kedalam 5 tingkatan :

- 0: eksplan mati dan tidak terbentuk kalus
- 1: terbentuk kalus friabel type 1 yaitu kalus yang teksturnya seperti kapas
- 2: terbentuk kalus kompak
- 3: terbentuk kalus kompak bernodul
- 4: terbentuk kalus friabel type 2 yaitu kalus yang teksturnya mudah pecah

5: terbentuk kalus friabel type 2 dan diikuti dengan pembentukan nodul

3. Warna Kalus

Pengamatan warna kalus dilakukan pada akhir pengamatan (30 HST) dengan mengamati secara visual. Penentuan warna kalus ditetapkan (Thomy, 2012) berdasarkan skoring :

- 1 : coklat
- 2 : putih kecoklatan
- 3 : hijau kecoklatan
- 4 : putih kekuningan
- 5 : hijau kekuningan
- 6 : hijau keputihan
- 7 : hijau .

b. Akar

Parameter yang akan diamati jika respon yang terjadi akar antara lain :

1. Waktu muncul akar

Pengamatan dilakukan setiap hari sampai muncul akar.

2. Panjang akar

Pengamatan dilakukan pada akhir pengamatan dengan mengukur panjang akar yang terbentuk menggunakan penggaris.

(Anggriani, 2010).

c. Tunas

Parameter pertumbuhan yang digunakan untuk menilai pengaruh media, eksplan dan faktor-faktor lain adalah:

1. Saat Muncul Tunas

Pengamatan dilakukan setiap hari dengan menghitung hari saat muncul tunas pertama kali yang dinyatakan dalam HST (hari setelah tanam). Penampakan Tunas yang terbentuk

Pengamatan tunas dilakukan pada akhir pengamatan secara visual. Pengamatan dilakukan dengan cara pemberian nilai (skor) dimana penampakan tunas yang terbentuk dibagi kedalam 4 tingkatan, yaitu :

- 0 = tidak tumbuh
- 1 = tunas tidak sempurna
- 2 = tunas kurang sempurna
- 3 = tunas sempurna

2. Jumlah daun

Dihitung pada akhir penelitian dengan menghitung jumlah daun yang muncul pada setiap perlakuan.

3. Panjang tunas (mm)

Dihitung pada akhir penelitian menggunakan kertas milimeter mulai dari tempat munculnya tunas (pangkal) sampai ujung tunas terpanjang.

(Harahap T, 2004).

4. Analisis Data

Analisis kualitatif meliputi data visual yang dianalisis dengan menggunakan metode deskriptif. Sedangkan data kuantitatif dianalisis dengan menggunakan analisis ragam berdasarkan uji F taraf 5% dan apabila terdapat beda nyata dilanjutkan dengan uji DMRT taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Respon Eksplan Biji *A. malaccensis* Terhadap Pemberian NAA dan IBA

Hasil pengamatan yang dilakukan pada NAA dan IBA (2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, dan 8 ppm) dengan penambahan BAP 2 ppm pada tiap konsentrasi menunjukkan bahwa respon dari biji gaharu *A. malaccensis* terhadap media ZPT yang ditambahkan adalah berupa kalus, respon berupa tunas dan akar tidak ditemukan hingga pada akhir pengamatan. Gunawan (1992) mengatakan bahwa kalus adalah sekumpulan sel *amorphous* yang terjadi dari sel-sel jaringan yang membelah diri secara terus-menerus. Hal ini diduga disebabkan oleh jenis ZPT dan konsentrasi yang diberikan pada eksplan tersebut. Zulkarnain (2009) mengatakan bahwa konsentrasi auksin yang rendah akan meningkatkan pembentukan akar, sedangkan konsentrasi auksin yang tinggi akan merangsang pembentukan kalus. ZPT berfungsi sebagai hormon untuk membantu pertumbuhan eksplan seperti dikatakan Santoso dan Nursandi (2001) bahwa ZPT adalah senyawa organik bukan nutrisi yang dalam konsentrasi rendah mampu mendorong, menghambat atau secara kualitatif mengubah pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Parameter kalus yang diamati adalah (1) saat muncul kalus, (2) warna kalus dan (3) Tekstur kalus.

1. Saat Muncul Kalus

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa saat munculnya kalus pada gaharu (*A. malaccensis*) memiliki waktu yang berbeda-beda pada setiap perlakuan. Setelah dilakukan analisis data dengan menggunakan rancangan percobaan diperoleh data bahwa pada perlakuan NAA dan IBA pada berbagai macam konsentrasi berpengaruh nyata terhadap saat munculnya kalus. Hal ini diperlihatkan dari data saat muncul kalus yang tidak merata pada tiap konsentrasi. Rata-rata waktu muncul kalus disajikan dalam Tabel 1 dan Tabel 2 berikut ini.

Tabel 1. Rata-rata saat muncul kalus pada NAA

Perlakuan	Rataan Saat Muncul Tunas (hari)
NAA 2 ppm	9.50 ^a
NAA 4 ppm	11.00 ^{ab}
NAA 6 ppm	10.05 ^{abc}
NAA 8 ppm	9.75 ^{bc}

Keterangan : Angka angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pengaruhnya menurut DMRT 5%".

Tabel 2. Rata-rata saat muncul kalus pada IBA

Perlakuan	Rataan Saat Muncul Tunas (hari)
IBA 2 ppm	9.75 ^a
IBA 4 ppm	11.25 ^{ab}
IBA 6 ppm	11.00 ^{abc}
IBA 8 ppm	11.75 ^{bc}

Keterangan : Angka angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pengaruhnya menurut DMRT 5%".

Hasil analisis Tabel 1 dan Tabel 2 menunjukkan bahwa konsentrasi ZPT yang terbaik untuk saat munculnya kalus adalah ZPT dengan konsentrasi NAA 2 ppm dan IBA 2 ppm. Kalus tercepat untuk membentuk kalus dari seluruh perlakuan yaitu pada hari ke-9, hal ini menunjukkan bahwa eksplan dari biji *A. malaccensis* ini merespon akan adanya ZPT yang diberikan pada media. Seperti dikatakan sebelumnya bahwa dalam konsentrasi yang rendah sudah dapat memacu pertumbuhan dari eksplan yang ditanam.

Pembentukan kalus dimulai pada daerah yang mengalami pelukaan pada eksplan serta ditandai dengan adanya pembengkakan pada biji. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan yang dikemukakan Gunawan (1992) yang menyatakan bahwa dalam keadaan *in vivo*, kalus pada umumnya terbentuk pada bekas-bekas luka akibat serangan infeksi mikroorganisme dan pada *in vitro* biasanya diakibatkan oleh pelukaan pada saat pemotongan eksplan. Pembengkakan pada biji menandakan bahwa biji sudah merespon media yang diberikan, dimana media tersebut diserap biji sebagai nutrisi untuk pertumbuhan kalus yang selanjutnya akan ditandai dengan tahapan proliferasi (perbanyakkan sel). Tahap proliferasi ini ditandai dengan semakin banyaknya kalus yang tumbuh. Auksin yang digunakan dalam penelitian ini adalah NAA yang berperan dalam pembelahan sel, pembentukan akar baru, dan juga dapat menginduksi kalus, dan sitokinin yang digunakan adalah BAP yang berfungsi untuk pemacu pertumbuhan eksplan, pembesaran sel dan pembelahan sel dan untuk pembentukan tunas. Penelitian ini menggunakan auksin yang lebih banyak dibandingkan dengan sitokinin dan diduga perbedaan konsentrasi ini yang memunculkan kalus pada eksplan. Thomy (2012) menyatakan bahwa secara umum penambahan auksin pada konsentrasi tinggi memacu pembentukan kalus, sebaliknya jika perbandingan auksin dan sitokinin didalam media lebih rendah akan memacu pertumbuhan eksplan beregenerasi membentuk organ.

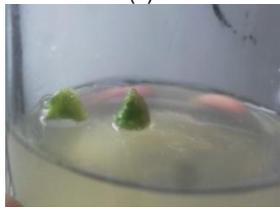
Hasil penelitian menunjukkan bahwa dengan penggunaan NAA 2 ppm sudah cukup untuk menghasilkan kalus dengan waktu tercepat, hal ini mungkin karena bijinya merespon dengan baik ZPT dalam media tersebut dan konsentrasi tersebut cocok untuk pertumbuhan kalus yang baik. Konsentrasi selanjutnya yaitu NAA 4 ppm menunjukkan terjadinya pertumbuhan kalus yang semakin lambat dan pada konsentrasi 6 ppm terjadi penurunan kembali hal ini mungkin disebabkan oleh keseimbangan konsentrasi ZPT dan kombinasi auksin dan sitokinin. Seperti dikatakan Hendaryono dan Wijayani (1994) bahwa pada kadar yang tinggi, auksin lebih bersifat menghambat

pertumbuhan daripada merangsang pertumbuhan. Tetapi berbeda halnya dengan respon pertumbuhan kalus pada IBA dimana pertumbuhan kalusnya lebih stabil. Hal ini sama seperti dikatakan Hendaryono dan Wijayani (1994) mengatakan bahwa IBA memiliki sifat lebih stabil tetapi pengaruhnya lebih lama, yang mana dalam penelitian ini pertumbuhan IBA lebih lama dibandingkan dengan pertumbuhan kalus dari NAA.

Secara alamiah kalus yang terbentuk pada penelitian ini terbentuk karena adanya pelukaan pada saat pemotongan biji gaharu. Santoso dan Nursandi (2001) mengatakan bahwa pada dasarnya kalus juga dapat dibentuk oleh tanaman sebagai upaya perlindungan tanaman terhadap pelukaan yang terjadi yang berguna sebagai jaringan penutup luka. Santoso (2010) mengatakan bahwa jika ada luka maka ada proses induksi pembelahan sel untuk menutup permukaan yang luka dan yang berperan dalam hal ini adalah sitokinin. Pada penelitian ini sub kultur dilakukan 2 minggu sekali hal ini untuk menggantikan unsur hara dalam media baru seperti dikatakan Gunawan (1992) bahwa kalus yang ditumbuhkan pada satu media, perlu dipindahkan secara teratur dalam jangka waktu tertentu. Masa kultur yang panjang dalam media yang tetap, akan menyebabkan terjadinya kehabisan hara dan air.



(a)



(b)



(c)

Gambar 3. Representasi pertumbuhan kalus (a) MS + IBA 8 ppm + BAP 2 ppm pada 0 HST, (b) MS + NAA 8 ppm + BAP 2 ppm pada 10 HST, (c) MS + IBA 2 ppm + BAP 2 ppm pada 42 HST

2. Warna kalus

Hasil analisis data terhadap warna kalus menunjukkan bahwa pemberian kedua ZPT tersebut memberikan pengaruh terhadap pembentukan warna kalus. Penilaian pada warna kalus ini dilakukan pada akhir pengamatan (melalui skoring) yang telah ditentukan sebelumnya yaitu saat kalus berumur 6 minggu (42 HST). Adanya pengaruh ZPT pada warna kalus dibuktikan dari terbentuknya warna kalus yang berbeda-beda pada tiap perlakuan. Penilaian pada warna kalus ini dilakukan tanpa menggunakan alat bantu apapun hanya secara visual. Skoring warna kalus disajikan pada Tabel 3 dan Tabel 4 berikut ini:

Tabel 3. Warna kalus pada NAA

No.	Perlakuan	Ulangan			
		1	2	3	4
1	NAA 2 ppm	6	3	6	5
2	NAA 4 ppm	6	2	3	5
3	NAA 6 ppm	6	6	2	3
4	NAA 8 ppm	4	3	6	5

Tabel 4. Warna kalus pada IBA

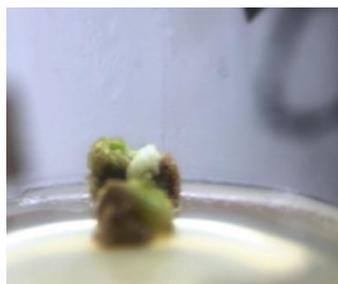
No.	Perlakuan	Ulangan			
		1	2	3	4
1	IBA 2 ppm	5	6	7	7
2	IBA 4 ppm	5	3	6	5
3	IBA 6 ppm	3	6	3	5
4	IBA 8 ppm	3	7	3	4

Skoring warna kalus pada NAA didominasi oleh kalus berwarna hijau keputih-putihan kehijauan (skoring 6) dan pada IBA warna kalusnya lebih didominasi oleh kalus yang berwarna hijau kecoklatan.. Kalus yang berwarna hijau (kalus yang paling baik) dengan skoring 7 hanya ditemukan pada IBA. Warna kalus yang berbeda-beda tiap perlakuan menunjukkan bahwa tingkat perkembangan kalus pada tiap konsentrasi berbeda-beda. Andaryani (2010) mengatakan bahwa penambahan konsentrasi sitokinin dengan konsentrasi yang semakin meningkat cenderung menunjukkan warna hijau (cerah) pada kalus lebih tahan lama, dan pada penelitian ini pernyataan tersebut bertolak belakang dengan hasil dimana sitokinin pada IBA dengan jumlah konsentrasi sitokinin terendah masih membentuk kalus berwarna hijau, dalam penelitian ini tidak ditemukan pengaruh pemberian banyaknya konsentrasi zat pengatur tumbuh pada warna kalus Lestari (2011) mengatakan bahwa jenis dan konsentrasi ZPT yang tepat untuk masing-masing tanaman tidak sama karena tergantung pada genotipe serta kondisi fisiologi jaringan tanaman.

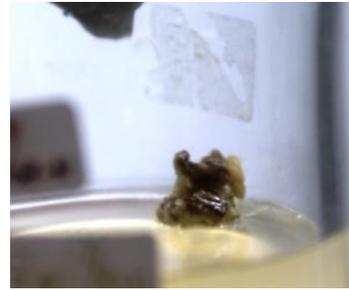
Pada penelitian ini terdapat beberapa kalus yang berwarna putih kecoklatan yang terdapat pada NAA 4 ppm dan NAA 6 ppm, hal ini disebabkan oleh adanya senyawa pada biji yang bersifat racun seperti dikatakan (Thomy, 2012) yang menyatakan bahwa warna

kecokelatan (*browning*) pada kalus ini akibat adanya metabolisme senyawa fenol bersifat toksik, yang sering terangsang akibat proses sterilisasi eksplan, yang menghambat pertumbuhan atau bahkan menyebabkan kematian jaringan. Santoso dan Nursandi (2001) menyatakan bahwa peristiwa pencoklatan tersebut sesungguhnya merupakan suatu peristiwa alamiah dan proses perubahan adaptif bagian tanaman akibat adanya pengaruh fisik seperti pengupasan, dan pemotongan. Gejala pencoklatan merupakan tanda-tanda terjadinya kemunduran fisiologis eksplan. Selain menandakan terjadinya sintesis senyawa fenol, warna coklat disebabkan oleh semakin bertambahnya umur sel atau jaringan kalus yang berwarna hijau kecokelatan dan hijau keputihan. Tidak hijauanya kalus disebabkan oleh dekomposisi klorofil yang menyebabkan kalus menjadi warna hijau kekuningan, putih kehijauan dan putih kekuningan. Hal ini disebabkan oleh beberapa hal, antara lain hilangnya polarisasi dimana polarisasi berfungsi dalam pembentukan klorofil kalus, dapat juga karena terjadi fotooksidasi sehingga menyebabkan hilangnya Mg^{2+} yang terjadi pada proses sub kultur. Sementara warna hijau menunjukkan bahwa kalus memiliki kandungan klorofil yang tinggi dan sel yang masih aktif membelah atau yang disebut dengan proliferasi.

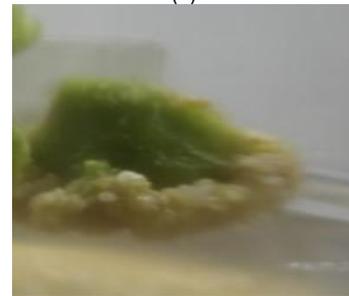
Warna kalus hampir sama yaitu hijau kecokelatan hingga hijau, Santoso dan Nursandi (2001) menyatakan bahwa tidak hijauanya kalus, diduga disebabkan oleh hilangnya polarisasi yang tentunya jika masih ada akan dapat mendorong lebih banyaknya terbentuk klorofil. Penelitian ini juga memperlihatkan terjadinya penurunan warna kalus, dimana kalus yang semula berwarna hijau menjadi warna hijau kekuningan atau menjadi warna lain. Pada penelitian ini tidak ditemukan kalus yang keseluruhannya berwarna coklat. Kemampuan eksplan membentuk kalus tergantung pada jenis dan kandungan hormon endogen serta interaksi antara ZPT eksogen dan hormon endogen yang terdapat pada eksplan tersebut dan pertumbuhan kalus ditentukan oleh komposisi media yang digunakan termasuk auksin dan sitokinin.



(a)



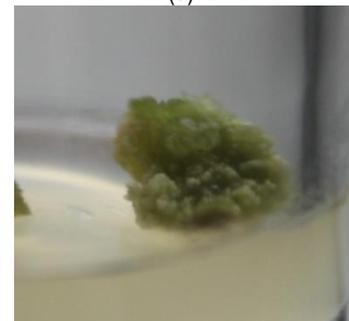
(b)



(c)



(d)



(e)



(f)

Gambar 4. Kategori skoring warna kalus pada eksplan tumbuhan penghasil gaharu (*A. malaccensis*) dimana (a) Skoring 2 (MS +

NAA 4 ppm + BAP 2 ppm), (b) Skoring 3 (MS + NAA 6 ppm + BAP 2 ppm), (c) Skoring 4 (MS + IBA 8 ppm + BAP 2 ppm), (d) Skoring 5 (MS + NAA 8 ppm + BAP 2 ppm), (e) Skoring 6 (MS + NAA 2 ppm + BAP 2 ppm), dan (f) Skoring 7 (MS + IBA 6 ppm + BAP 2 ppm) pada akhir pengamatan (42 HST).

3. Tekstur kalus

Hasil penelitian menunjukkan analisis bahwa ZPT memberikan berpengaruh terhadap pembentukan tekstur kalus, hal ini dibuktikan dengan terbentuknya kalus pada setiap perlakuan. Pengamatan pada tekstur kalus ini dilakukan tanpa menggunakan alat bantu. Tekstur kalus yang terbentuk diamati setelah kalus berumur 6 minggu (42 HST) dan didapat bahwa kalus tersebut memiliki tekstur yang berbeda-beda dimulai dari kalus friabel tipe 1 yaitu kalus yang teksturnya seperti kapas, kalus kompak dan kalus kompak bernodul pada tiap konsentrasi ZPT. Tekstur warna kalus pada tiap ZPT disajikan dalam Tabel 5 dan Tabel 6 berikut.

Tabel 5. Tekstur kalus pada NAA

No.	Perlakuan	Ulangan			
		1	2	3	4
1	NAA 2 ppm	5	2	3	3
2	NAA 4 ppm	4	3	3	3
3	NAA 6 ppm	3	1	2	1
4	NAA 8 ppm	1	1	1	3

Tabel 6. Tekstur kalus pada IBA

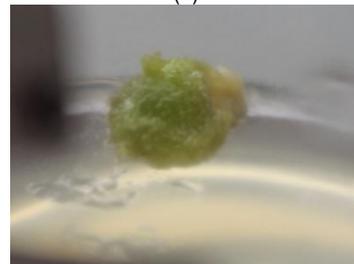
No.	Perlakuan	Ulangan			
		1	2	3	4
1	IBA 2 ppm	1	1	3	3
2	IBA 4 ppm	1	3	3	3
3	IBA 6 ppm	1	3	1	3
4	IBA 8 ppm	3	1	1	1

Pada pengamatan dengan NAA dan IBA didapat bahwa kalus yang mendominasi adalah kalus kompak bernodul. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa jenis ZPT ini memberikan pengaruh terhadap pembentukan tekstur kalus, tetapi pada penelitian ini konsentrasi auksin dan sitokinin tidak memberikan pengaruh yang berarti pada terbentuknya tekstur kalus. Hal ini bertolak belakang dengan pernyataan Hendaryono dan Wijayani (1994) yang mengatakan bahwa jika kandungan auksin yang terlalu tinggi maka akan dapat menghambat terbentuknya kalus. Thomy (2012) mengatakan, bahwa pembentukan kalus atau organ pada kultur *in vitro* lebih dipengaruhi oleh genotip, inisiasi kultur, lingkungan

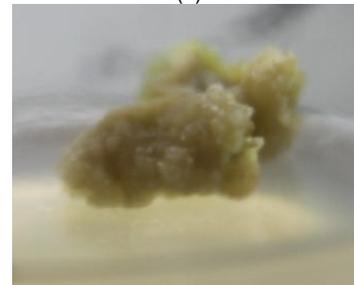
tumbuh dan fisiologi jaringan yang digunakan. Tekstur kalus merupakan salah satu penanda yang digunakan untuk menilai kualitas dari kalus. Thomy (2012) mengatakan tekstur kalus yang remah atau mudah pecah dianggap baik karena memudahkan dalam pemisahan menjadi sel-sel tunggal, disamping itu akan meningkatkan aerasi oksigen antar sel dengan demikian, dengan tekstur tersebut upaya untuk perbanyakkan dalam hal jumlah kalus yaitu melalui kultur suspensi lebih mudah. Sementara struktur kalus kompak menggambarkan bahwa peluang kalus untuk dikembangkan dan ditumbuhkan lebih lanjut menjadi tanaman utuh (planlet) secara langsung lebih besar. Tekstur kalus kompak bernodul menunjukkan bahwa kalus tersebut mempunyai potensi membentuk embrio. Tekstur pada kalus dapat bervariasi dari kompak hingga meremah, tergantung pada jenis tanaman yang digunakan, komposisi nutrisi media, ZPT dan kondisi lingkungan kultur. Pada penelitian ini diperoleh bahwa pembentukan tekstur kalus pada NAA cenderung lebih baik dibandingkan pada IBA.



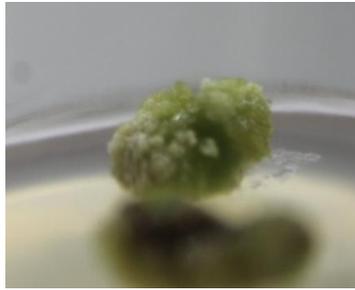
(a)



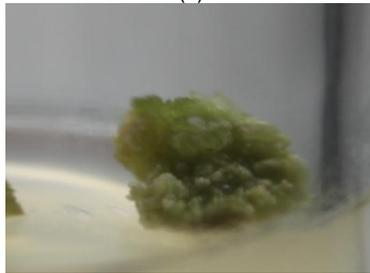
(b)



(c)



(d)



(e)

Gambar 6. Kategori tekstur kalus pada eksplan penghasil gaharu (*A. malaccensis*) dimana (a) Skoring 1 (MS + NAA 4 ppm + BAP 2 ppm), (b) Skoring 2 (MS + IBA 6 ppm + BAP 2 ppm), (c) Skoring 3 (MS + NAA 6 ppm + BAP 2 ppm), (d) Skoring 4 (NAA 2 ppm + BAP 2 ppm), dan (e) Skoring 5 (MS + NAA 4 ppm + BAP 2 ppm) pada akhir pengamatan (42 HST).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Respon eksplan biji gaharu pada ZPT NAA dan IBA (2 ppm, 4 ppm, 6 ppm dan 8 ppm) dengan penambahan BAP 2 ppm pada tiap konsentrasi menghasilkan respon berupa kalus tanpa respon akar dan tunas.

Konsentrasi ZPT NAA dan IBA berpengaruh nyata terhadap waktu muncul kalus dan konsentrasi yang terbaik adalah NAA 2 ppm dan IBA 2 ppm. Warna kalus yang dihasilkan dari ZPT NAA dan IBA didominasi oleh kalus berwarna hijau keputihan dan hijau kecoklatan. Perlakuan NAA dan IBA umumnya menghasilkan kalus yang bertekstur kompak bernodul.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan berupa variasi konsentrasi dari NAA dan IBA sampai menghasilkan planlet sehingga dapat ditanam dilapangan dan mengetahui kombinasi auksin dan sitokinin yang terbaik untuk menghasilkan kalus.

DAFTAR PUSTAKA

- Andaryani, S. 2010. Kajian Penggunaan berbagai Konsentrasi BAP dan 2,4-D terhadap Induksi Kalus Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) Secara In Vitro. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Azwin, Siregar I Z., dan Supriyanto., Penggunaan BAP Dan TDZ Untuk Perbanyak Tanaman Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk.) (*The Use of BAP and TDZ for Propagation of Agarwood (Aquilaria malaccensis Lamk.)*). Bogor. Media Konservasi Vol. XI, No. 3 Desember 2006 : 98 – 104
- Gunawan, L. W. 1992. Tehnik Kultur Jaringan Tumbuhan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Hendaryono, D. P. S dan Wijayani, A. 1994. Teknik Kultur Jaringan Pengenalan dan Petunjuk Perbanyak Tanaman Secara Vegetatif Modern. Kanisius. Yogyakarta
- Karomah, N. M. 1998. Embriogenesis Somatik dan Calon Bunga Jantan pada Beberapa Kultur Pisang (*Musa spp.*) Tesis Jurusan Biologi FMIPA. IPB. Bogor.
- Lestari, E. G. 2011. Peranan Zat Pengatur Tumbuh dalam Perbanyak Tanaman melalui Kultur Jaringan. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian. Bogor. Jurnal *AgroBiogen* Volume 7 No. 1 Hal.63-68.
- Santoso. U dan Nursandi, F. 2001. Kultur Jaringan Tanaman. Universitas Muhammadiyah Malang. Malang.
- Santoso E., Agustini L., Sitepu I. R., dan Turjaman M. 2007. Efektivitas Pembentukan Gaharu Dan Komposisi Senyawa Resin Gaharu Pada *Aquilaria* spp. (*Effectiveness of Agarwood Formation and the Resin Composition of Aquilaria spp.*). Bogor. Jurnal Penelitian Hutan dan Konservasi Alam. Vol. IV No. 6 : 543-551.
- Thomy Z. 2012. *Effect of plant growth regulators 2,4 D dan BAP on callus growth of plants producing gaharu (Aquilaria malaccensis Lamk.)*. Prosiding Seminar Hasil Nasional Biologi. Medan, 11 Mei 2012.
- Triharyanto, A. 2005 Multiplikasi Tunas Tanaman Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk.) secara in vitro. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Zulkarnain, H. 2009. Kultur Jaringan Tanaman Solusi Perbanyak Tanaman Budidaya. Bumi Aksara. Jakarta.