



**PENGARUH MACAM EKSPLAN DAN KONSENTRASI 2,4 D  
TERHADAP INDUKSI KALUS KLUWEK  
(*Pangium edule* Reinw.) SECARA IN VITRO**

**SKRIPSI**

**Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat  
untuk menyelesaikan Program Sarjana (S1) pada Program Studi  
Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember**

**Oleh:  
Hendy Dwi Prabakti  
101510501030**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2017**

## PERSEMBAHAN

Setulus-tulusnya dengan menyebut Allah SWT Yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang, saya persembahkan skripsi ini dengan segala cinta kasih kepada:

1. Kedua orang tuaku, Ibunda Sasmiatik yang penuh dengan cinta kasih berjuang untuk pendidikan layak bagi anakmu dan Ayahanda Alm. Paidjan yang akan selalu dikenang baik teladan dan perjuangannya dalam ikatan batin di hati yang terdalam;
2. Keluarga besarku, suara dan wajah kasihnya yang selalu menyertaiku dalam kehidupan ini;
3. Guru Hidup yang selalu menyatu dalam ikatan batin dan lahir;
4. Almamater Fakultas Pertanian Universitas Jember;
5. Para dosen dan pembimbing yang banyak berjasa dalam membimbing dan mengarahkan;
6. Teman, Sahabat, Saudara, dan Keluarga besar Organisasi Mahasiswa Pecinta Alam Semesta (MAPENSA);

**MOTTO**

“Baginya (Manusia) Ada Malaikat-Malaikat yang Selalu Menjaga Bergiliran, dari Depan dan Belakangnya. Mereka Menjaganya Atas Perintah Allah. Sesungguhnya Allah Tidak Akan Mengubah Keadaan Suatu Kaum Sebelum Mereka Merubah Keadaan Diri Mereka Sendiri. Dan Apabila Allah Mengkehendaki Keburukan Terhadap Suatu Kaum, Maka Tidak Ada yang Dapat Menolakny dan Tidak Ada Pelindung Bagi Mereka Selain Dia”

(QS 13 Ar-Ra’d, Ayat 11)

Ilmu Tanpa Praktek Bagaikan Pohon yang Tidak Berbuah

العلم بلا عمل كالشجر بلا ثمر

Putra Bangsa, Generasi Penerus Kelanjutan Kebaikan Bagi Bangsa, Janganlah Mengakui Iman Tanpa Mampu Berbuat Apapun, Berkacalah! Pandang Wajahmu dan Nilai Imanmu... Jauhkan Diri dari Hayal dan Anganmu... Tak Mungkin Wajah dan Iman Terlihat, Bila Bercermin pada Air Bergolak...

(Eyang)

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Hendy Dwi Prabakti

NIM : 101510501030

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul **“Pengaruh Macam Eksplan dan Konsentrasi 2,4 D terhadap Induksi Kalus Kluwek (*Pangium edule Reinw.*) secara *In Vitro*** adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus saya junjung tinggi.

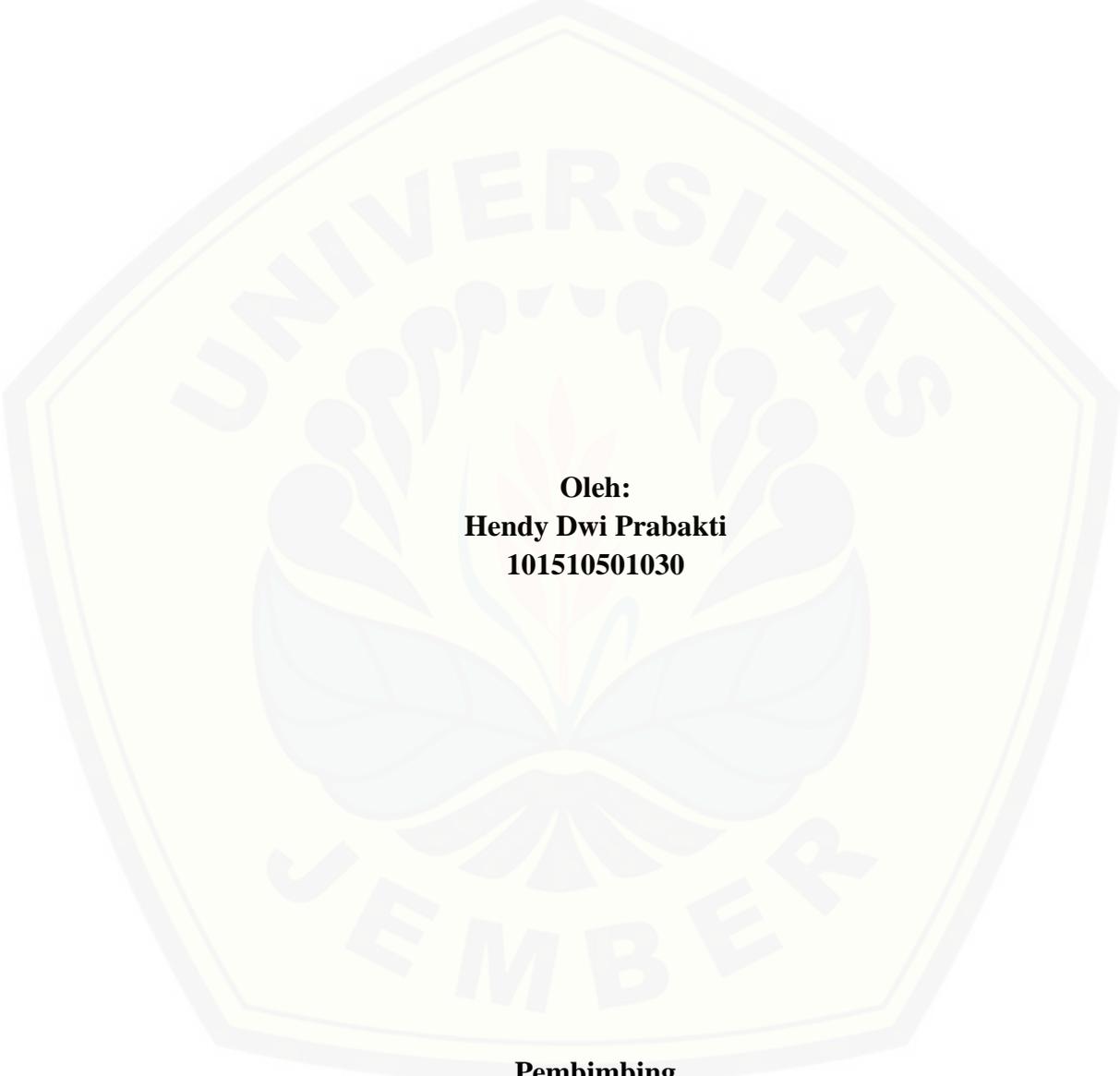
Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

**Jember, 15 Maret 2017**  
**Yang Menyatakan,**

**Hendy Dwi Prabakti**  
**NIM. 101510501030**

**SKRIPSI**

**RESPON MACAM EKSPAN DAN PENGARUH KONSENTRASI  
2,4D TERHADAP INDUKSI KALUS KLUWEK  
(*Pangium edule* Reinw.) SECARA IN VITRO**



Oleh:  
**Hendy Dwi Prabakti**  
**101510501030**

**Pembimbing**

Dosen Pembimbing Utama : Ir. Didik Pudji Restanto, M.S., Ph. D  
196504261994031001

Dosen Pembimbing Anggota : Dr. Ir. Sholeh Avivi, M.Si.  
196907212000121002

**PENGESAHAN**

Skripsi yang berjudul “**Pengaruh Macam Eksplan dan Konsentrasi 2,4 D terhadap Induksi Kalus Kluwek (*Pangium edule* Reinw.) secara *In Vitro***” telah diuji dan disahkan pada:

Hari, Tanggal : Rabu, 15 Maret 2017

Tempat : Ruang Sidang 2 Fakultas Pertanian Universitas Jember

**Dosen Pembimbing Utama,**

**Dosen Pembimbing Anggota,**

**Ir. Didik Pudji Restanto, M.S., Ph. D**  
NIP. 196504261994031001

**Dr. Ir. Sholeh Avivi, M.Si.**  
NIP. 196907212000121002

**Dosen Penguji I,**

**Dosen Penguji II,**

**Ir. Kacung Hariyono, M.S., Ph. D**  
NIP. 196408141995121001

**Ummi Sholikhah, S.P., M. P**  
NIP. 197811302008122001

**Mengesahkan**

**Dekan,**

**Ir. Sigit Soeparjono, M.S., Ph. D**  
NIP. 196005061987021001

## RINGKASAN

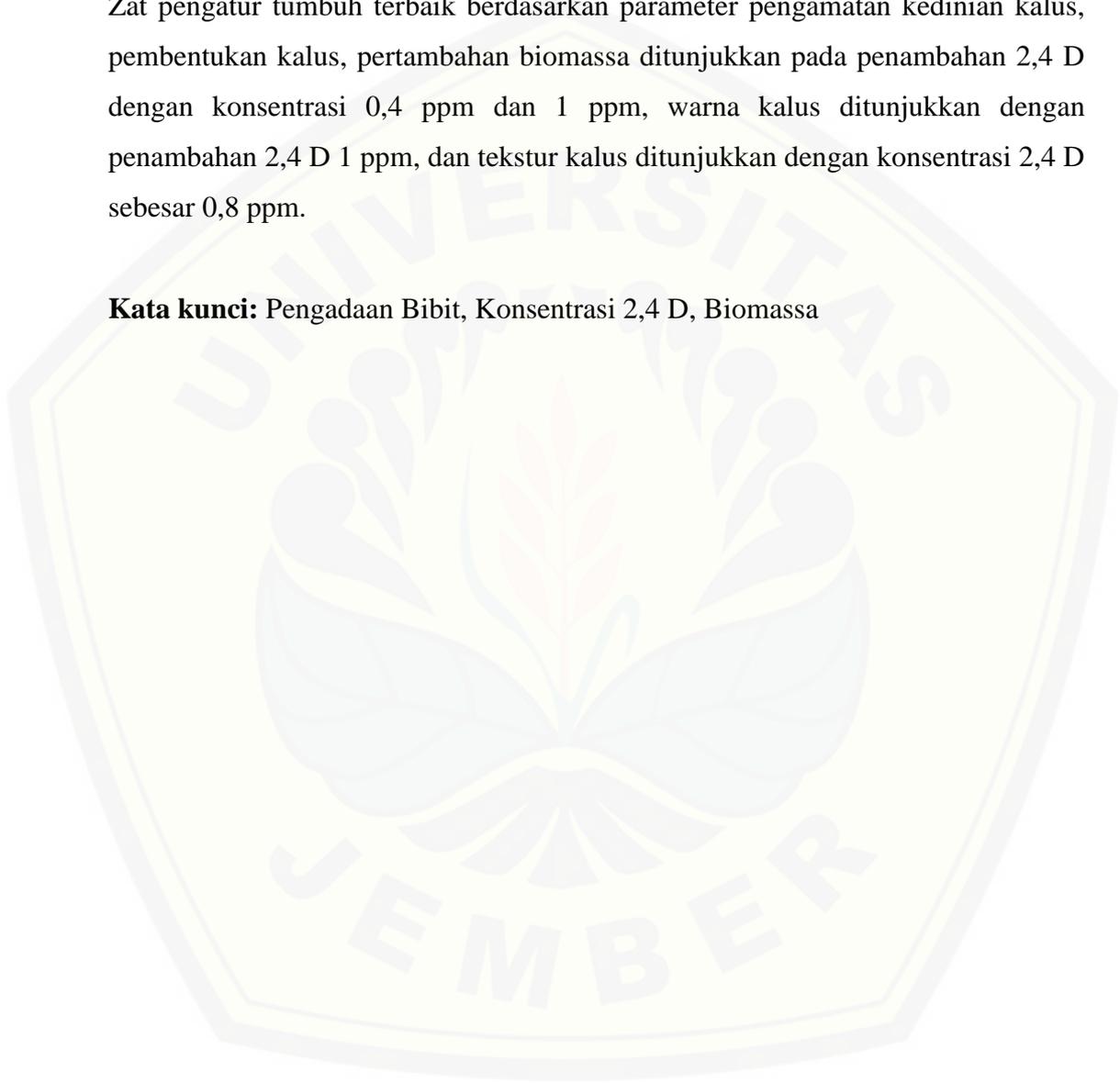
**Pengaruh Macam Eksplan dan Konsentrasi 2,4 D terhadap Induksi Kalus Kluwek (*Pangium edule* Reinw.) secara *In Vitro***; Hendy Dwi Prabakti, 101510501030; 2017; Halaman: 58; Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember.

Kluwek sejatinya adalah vegetasi pohon asli Indonesia memiliki fungsi ekologi dalam perbaikan lingkungan dan patut untuk dibudidayakan. Jenis ini memiliki nilai konservasi dan ekonomi atau disebut jenis tanaman *Multi Purpose Tree Species (MPTS)* atau tanaman multi guna. Tanaman *MPTS* adalah tanaman serbaguna yang dapat diambil buah, bunga, kulit, dan daunnya. Kebanyakan pemakaian *Pangium edule* didasarkan pada adanya asam sianida. Salah satu teknik perbanyakan adalah teknik kultur jaringan. Pengadaan bibit lewat biji sangat terbatas karena keberhasilan perkecambahan hanya 10 %. Karena itu perlu pengadaan bibit kluwek siap tanam yang mencukupi diperoleh melalui perbanyakan vegetatif kultur jaringan. Pengembangan bibit kluwek hasil kultur jaringan nantinya juga dapat dimanfaatkan untuk pelestarian keanekaragaman jenis plasma nutfah agar tetap lestari dan dapat dimanfaatkan secara berkelanjutan.

Tujuan penelitian untuk mengetahui respon eksplan dan pengaruh konsentrasi pemberian 2,4-D Induksi Kalus *Pangium edule* Reinw. melalui kultur *in vitro*, serta interaksi eksplan dengan 2,4 D. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Jurusan Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Jember. Percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang tersusun secara faktorial dengan dua faktor perlakuan. Faktor pertama yaitu Macam eksplan terdiri dari 2 taraf: E1 = Daun; dan E2 = *Endosperm*. Taraf Konsentrasi 2,4 D yang diberikan: D0 = 0,0 ppm; D1 = 0,2; D2 = 0,4 ppm; D3 = 0,6 ppm; D4 = 0,8 ppm; D5 = 1 ppm. Data dianalisis dengan anova dan apabila terdapat perbedaan nyata diantara perlakuan maka dilanjutkan dengan menggunakan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan taraf kepercayaan 95 %.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa, terdapat interaksi yang sangat nyata antara macam eksplan dan 2,4 D. Berdasarkan parameter pengamatan eksplan terbaik dalam kedinian kalus, pembentukan kalus, penambahan biomassa, warna kalus, dan tekstur kalus ditunjukkan oleh eksplan yang diambil dari bagian daun. Zat pengatur tumbuh terbaik berdasarkan parameter pengamatan kedinian kalus, pembentukan kalus, penambahan biomassa ditunjukkan pada penambahan 2,4 D dengan konsentrasi 0,4 ppm dan 1 ppm, warna kalus ditunjukkan dengan penambahan 2,4 D 1 ppm, dan tekstur kalus ditunjukkan dengan konsentrasi 2,4 D sebesar 0,8 ppm.

**Kata kunci:** Pengadaan Bibit, Konsentrasi 2,4 D, Biomassa



## SUMMARY

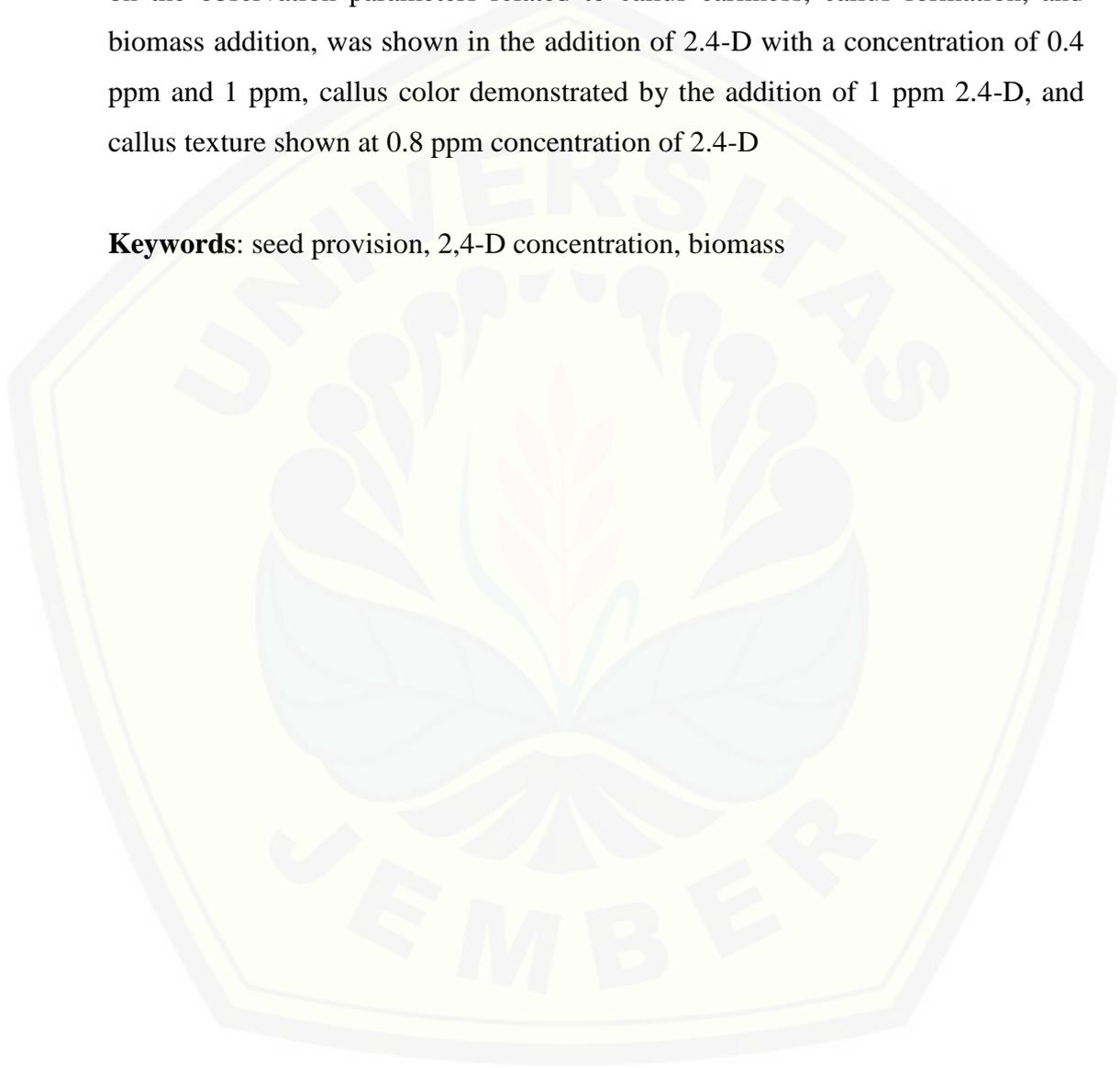
**The Effect of Explant Varieties and 2,4-D on Football Fruit Callus Induction (*Pangium edule* Reinw.) through In Vitro Setting.** Hendy Dwi Prabakti, 101510501030; 2017; Pages: 58; The Department of Agrotechnology, The Faculty of Agriculture, Jember University

Football Fruit is actually a native Indonesia tree vegetation with typical ecological function in improving the environment and it is worth cultivating. This type has a conservation and economic value or the so-called Multi Purpose Tree Species (MPTS) or multi-use plant. MPTS plant is a versatile crop, the fruits, flowers, bark, and leaves of which can be taken. Most of the uses of *Pangium edule* are based on the presence of cyanide. One particular induction technique is tissue culture. The provision of seeding through seed germination is very limited due to only 10% success of germination. Therefore, it is deemed important to provide sufficient ready-to-plant seedlings of Football Fruit, which can be obtained from the vegetative induction of tissue culture. The development of Football Fruit seedlings through tissue culture can also be used for conserving omnifarious germplasms so as to make them everlasting and sustainably used.

The study aimed at studying the response of explants and the concentration effect of 2,4-D on *Pangium edule* Reinw induction through in vitro culture, as well as the interaction between explants and 2.4-D. The research was conducted at the Laboratory of Tissue Culture of the Department of Agronomy, the Faculty of Agriculture, at Jember University. The experiments applied complete randomized design (CRD), which was factorially arranged with two treatment factors. The first factor was various explants, which consisted of 2 levels: E1 = Leaf; and E2 = *endosperm*. The given concentration levels of 2.4 D comprised of: D0 = 0.0 ppm; D1 = 0.2; D2 = 0.4 ppm; D3 = 0.6 ppm; D4 = 0.8 ppm; D5 = 1 ppm. The obtained data were analyzed using ANOVA and if there were significant differences between the treatments, then data analysis would be continued by using Test of the Least Significant Difference with 95% confidence level.

The results showed that there was a very significant interaction between explant varieties and 2,4-D. Based on the observation parameters, the best explant, as indicated by callus earliness, callus formation, biomass addition, callus color, and callus texture, was the one taken from leaf. The best growth regulator, based on the observation parameters related to callus earliness, callus formation, and biomass addition, was shown in the addition of 2,4-D with a concentration of 0.4 ppm and 1 ppm, callus color demonstrated by the addition of 1 ppm 2,4-D, and callus texture shown at 0.8 ppm concentration of 2,4-D

**Keywords:** seed provision, 2,4-D concentration, biomass



## PRAKATA

Puji syukur mendalam ke dalam diri penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa yang memberikan rahmad, hidayah, dan cinta kasihnya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir berupa karya tulis ilmiah yang berjudul **Pengaruh Macam Eksplan dan Konsentrasi 2,4 D terhadap Induksi Kalus Kluwek (*Pangium edule Reinw.*) Secara *In Vitro***. Penyusunan karya tulis ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan Pendidikan Strata Satu (S1) pada Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Penyusunan karya tulis ilmiah ini pada prosesnya tidak terlepas dari bantuan serta dukungan berbagai pihak baik secara langsung dan tak langsung, oleh karena itu penulis menyampaikan terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada:

1. Ibu Sasmatik dan Alm. Bapak Paidjan orang tua penulis yang senantiasa merestui setiap langkah usaha penulis dengan penuh cinta kasih sehingga penulis peroleh makna akan pengalaman dan pelajaran hidup yang tidak akan tergantikan dengan hal apapun
2. Ir. Didik Pudji Restanto, MS., Ph.D. selaku dosen pembimbing utama, Dr. Ir. Sholeh Avivi, M.Si. selaku dosen pembimbing anggota, Ir. Kacung Hariyono, M.S., Ph. D selaku dosen penguji I, dan Ummi Sholikhah, S.P., M. P selaku dosen penguji II yang telah meluangkan waktu dan perhatiannya untuk memberikan ilmu serta bimbingannya dalam menyelesaikan karya tulis ilmiah
3. Ir. R. Soedrajad, M.T yang telah memberikan masukan dan inspirasi penulis dalam mempertimbangkan serta memilih sumber penelitian
4. Dr. Ir. Mochamad Hoesain, M. S selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah mecurahkan dan meluangkan waktu untuk membimbing selama studi;
5. Sigit Soeparjono, M.S., Ph. D selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Jember

6. Teknisi Laboratorium Bapak Budi Kristanto, SP. yang telah membantu dengan penuh kesabaran selama mengerjakan penelitian di Laboratorium Kultur Jaringan
7. Saudara-saudara hidup, kakak, adik, dan semuanya yang wajah kasihnya selalu menyertai setiap saat
8. Saudara MAPENSA Angkatan 27 yang berjuang bersama khususnya Petruk, Darong, Gopek, Tacik, Tole dan umumnya yang sudah menyelesaikan studi lebih dahulu
9. Senior MAPENSA atas berbagai ilmu manajemen organisasi, pengalaman soft skill, idealisme, paham pikir, dan semangat yang ditularkan
10. Adik-adik MAPENSA Angkatan 29 Dollah yang berdiri teguh dalam kesulitannya yang membuat penulis tetap teguh pula, Angkatan 30 kepada satu orang khususnya ABG yang berjuang dengan tulus menjadi bagian rasa puas penulis untuk tetap berjuang pula, Angkatan 31 atas kemauan dan ketulusan dalam menempa sehingga pada akhirnya menjadi pemicu semangat untuk penulis menyelesaikan penelitian dan karya tulis ini, Adik-adik Angkatan 32 yang masih belajar namun memberikan nilai tawar tinggi dalam kualitas penem্পaannya membuat semangat penulis terus terpacu, serta Adik-adik angkatan selanjutnya semoga selalu mewarisi semangat juang dan idealisme dengan karakter yang kuat sebagai salah satu hal yang selalu tertanam dalam diri penulis
11. Lela, Lintang, Syfa, Sarah, Haris, dan Amir rekan-rekan Kultur Jaringan yang senantiasa berbagi ilmu sehari-harinya dalam kehidupan di Laboratorium
12. Teman-teman seperjuangan Agroteknologi Khususnya dan FAPERTA umumnya
13. Seluruh pihak yang tidak bisa kami sebutkan satu-persatu atas sumbangsih dan dukungannya baik moril dan materi selama ini

Tidak banyak yang bisa penulis berikan selain ucapan terima kasih untuk semua pihak yang senantiasa banyak memberi pelajaran bagi penulis dalam setiap langkah dan tindakan yang penulis wujudkan. Terima kasih dan rasa hormat tak terhingga akan selalu penulis kenang dihati demi ikatan silaturahmi yang terus

mengalir hingga sekarang dan nanti. Semoga Sang Maha Hidup selalu melimpahkan Karunia Ar-Rahman dan Ar-Rohim untuk Kita Semua sebagai manusia yang mengabdikan terhadap-Nya.

Penulisan karya tulis ini masih jauh dari sempurna, sehingga penulis sangat berharap kritik dan saran yang membangun. Besar harapan karya tulis ini bermanfaat untuk semua pihak.

Jember, 15 Maret 2017

**Penulis**



**DAFTAR ISI**

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>I</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	<b>II</b>
<b>HALAMAN MOTTO</b> .....	<b>III</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	<b>IV</b>
<b>HALAMAN PEMBIMBINGAN</b> .....	<b>V</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>VI</b>
<b>RINGKASAN</b> .....	<b>VII</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>IX</b>
<b>PRAKATA</b> .....	<b>XI</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>XIV</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>XVII</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>XVIII</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Perumusan Masalah .....	2
1.3 Tujuan .....	2
1.4 Manfaat .....	3
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>4</b>
2.1 Kluwek ( <i>Pangium edule</i> Reinw.) .....	4
2.1.1 Daun .....	6
2.1.2 Bunga .....	6
2.1.3 Buah .....	7
2.1.4 Biji .....	8
2.1.5 Batang dan Akar .....	8
2.1.6 Habitat .....	8
2.2 Status Koservasi dan Pemanfaatan .....	9
2.3 Perkembangan Riset Kluwek .....	9

2.4 Media Tanam dan Zat Pengatur Tumbuh <i>In Vitro</i> .....	11
2.4.1 Media Tumbuh .....	11
2.4.2 Zat Pengatur Tumbuh .....	12
2.5 Hipotesis .....	13
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>15</b>
3.1 Waktu dan Tempat .....	15
3.2 Bahan dan Alat .....	15
3.2.1 Bahan .....	15
3.2.2 Alat .....	15
3.3 Metode Percobaan .....	15
3.4 Pelaksanaan Percobaan .....	16
3.4.1 Percobaan pendahuluan Persiapan Bahan Tanam .....	17
3.4.2 Sterilisasi Alat .....	17
3.4.3 Sterilisasi Ruang Tanam .....	17
3.4.4 Pembuatan dan Sterilisasi Media Tanam .....	17
3.4.5 Sterilisai Eksplan dan Penanaman .....	18
3.4.5.1 Sterilisasi Eksplan Daun .....	18
3.4.5.2 Sterilisasi Eksplan <i>Endosperm</i> .....	19
3.4.6 Pemeliharaan .....	20
3.5 Parameter Pengamatan .....	21
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>23</b>
4.1 Hasil .....	23
4.1.1 Persiapan Bahan Tanam .....	23
4.1.2 Rangkuman F-hitung Semua Pengamatan .....	24
4.1.3 Kedinian Munculnya Kalus .....	25
4.1.4 Persentase Eksplan yang Membentuk Kalus .....	26
4.1.5 Berat Kalus (Pertambahan Nilai Biomassa) .....	26
4.1.6 Warna Kalus .....	27
4.1.7 Tekstur Kalus .....	29
4.2 Pembahasan .....	32
<b>BAB 5. PENUTUP .....</b>	<b>37</b>

5.1 Kesimpulan .....	39
5.2 Saran .....	39
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>38</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>41</b>



DAFTAR TABEL

	Halaman
3.1 Kombinasi Perlakuan Macam Eksplan dan Konsentrasi 2,4 D .....	16
4.1 Rangkuman F-hitung Semua Variabel Pengamatan .....	24
4.2 Hasil uji lanjut BNT 5% interaksi antara macam eksplan dan konsentrasi 2,4 D terhadap kedinian terbentuknya kalus .....	25
4.3 Hasil uji lanjut BNT 5% interaksi antara macam eksplan dan konsentrasi 2,4 D terhadap persentase terbentuknya kalus .....	26
4.4 Hasil uji lanjut BNT 5% interaksi antara macam eksplan dan konsentrasi 2,4 D terhadap berat kalus .....	27
4.5 Warna <i>Munsell Color Chart</i> kalus kluwek ( <i>Pangium edule</i> Reinw.) terbaik pada masing-masing perlakuan .....	28
4.6 Hasil uji lanjut BNT 5% interaksi antara macam eksplan dan konsentrasi 2,4 D terhadap warna kalus .....	29
4.7 Hasil uji lanjut BNT 5% interaksi antara macam eksplan dan konsentrasi 2,4 d terhadap tekstur kalus .....	30
4.8 Tektur Kalus Terbaik pada Masing-masing Perlakuan .....	31

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Searah jarum Jam: Kecambah Kluwek ( <i>Pangium edule</i> Reinw.) Pohon, Daun, Bunga, Buah (Yohar, 2012) .....	5
3.1 (a) Kontaminasi Jamur pada Eksplan Daun 1 MST dengan Metode Sterilisasi Pembilasan ditambah Sabun dan (b) Eksplan Daun yang Aman dari Kontaminasi 2 MST dengan Metode Sterilisasi Pembilasan tanpa Menggunakan Sabun .....	19
3.2 Eksplan <i>Endosperm</i> Biji Kluwek .....	19
3.3 (a) Kontaminasi Jamur, (b) Kontaminasi Bakteri dan (c) Keberhasilan Sterilisasi .....	20
4.1 Tahapan Pertumbuhan Biji Kluwek Persemaian Pertama .....	23
4.2 Pertumbuhan Biji Kluwek Persemaian Kedua .....	24

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Kluwek sejatinya adalah vegetasi pohon asli Indonesia memiliki fungsi ekologi dalam perbaikan lingkungan dan patut untuk dibudidayakan. Prinsip pokok yang sama-sama harus dipahami Kluwek bukan sebagai tanaman pokok ekonomi, melainkan tanaman pendukung peningkatan ekonomi alternatif. Jenis ini memiliki nilai konservasi dan ekonomi atau disebut jenis tanaman *Multi Purpose Tree Species (MPTS)* atau tanaman multi guna. Tanaman *MPTS* adalah tanaman serbaguna yang dapat diambil buah, bunga, kulit, dan daunnya. Kebanyakan pemakaian *Pangium edule* didasarkan pada adanya asam sianida pada semua bagian tanaman mulai dari biji, buah, daun, kulit kayu atau akar. Daun segar, getah daun, tumbukan daun, dan tumbukan biji digunakan sebagai antiseptik dan disinfektan untuk membersihkan luka dari luar (Yohar, 2012). Bagi petani sekitar kawasan Taman Nasional Meru Betiri, pohon Kluwek selain sebagai bumbu dapur (daging biji yang sudah tua) banyak dimanfaatkan pula pucuk daun untuk pembuatan pestisida nabati berupa racun serangga (insektisida). Yohar (2012), masyarakat di daerah Taman Nasional Kerinci Seblat, mengolah Kluwek menjadi minyak dan bumbu. Bahkan ampas (*kruwi*) sisa pembuatan minyak dimanfaatkan menjadi pakan ikan atau sebagai obat nyamuk bakar.

Kluwek memiliki beragam manfaat, namun nilai ekonominya masih diukur dari pasar lokal, belum ada upaya pengembangan untuk nasional apalagi internasional (Yohar, 2012). Pengembangan untuk nasional ataupun internasional perlu didukung dengan penyediaan bibit siap tanam yang mencukupi. Penyediaan bibit kluwek tidak bisa tercukupi bila hanya mengandalkan sumber bahan tanam dari perbanyakan generatif. Kebutuhan bibit tanaman tidak akan tercukupi bila hanya mengandalkan perbanyakan tanaman secara generatif karena terbatas adanya, musim berbuah, beragamnya sifat keturunan, membutuhkan tempat perbanyakan yang luas, dan bibit yang dihasilkan jumlahnya terbatas. Sehingga untuk itu diperlukan adanya alternatif perbanyakan tanaman. Pengadaan bibit lewat biji sangat terbatas karena keberhasilan perkecambahan hanya 10 %. Karena

itu perlu pengadaan bibit kluwek siap tanam yang mencukupi diperoleh melalui perbanyakan vegetatif kultur jaringan.

Pengembangan bibit kluwek hasil kultur jaringan nantinya juga dapat dimanfaatkan untuk pelestarian keanekaragaman jenis plasma nutfah agar tetap lestari dan dapat dimanfaatkan secara berkelanjutan. Perbanyakan vegetatif melalui kultur jaringan harus memperhatikan beberapa faktor seperti eksplan, media kultur, dan zat pengatur tumbuh. Setiap eksplan berbeda memiliki spesifik masing-masing dalam penentuan media dan ZPT. Pemilihan eksplan tanaman yang digunakan berupa tanaman berkayu *Pangium edule* Reinw., dengan media khusus tanaman kayu *Woody Plant Medium* (WPM), perlakuan konsentrasi 2,4-*dichlorophenoxyacetic* (2,4-D). 2,4-D ZPT dari golongan auksin, merupakan ZPT sintetis bersifat stabil yang tidak mudah terurai oleh pemanasan pada proses sterilisasi (Hendaryono dan Wijayanti, 1994), dan harganya relatif murah (Suryowinoto, 1996 dalam Lestari, 2013).

## 1.2 Perumusan Masalah

1. Apakah respon penggunaan macam eksplan dengan berbagai macam konsentrasi 2,4 D berpengaruh terhadap induksi kalus Kluwek (*Pangium edule* Reinw.) secara *in vitro*?
2. Apakah macam eksplan Kluwek (*Pangium edule* Reinw.) memiliki respon terhadap induksi kalus secara *in vitro*?
3. Apakah konsentrasi 2,4 D yang berbeda berpengaruh pada induksi kalus Kluwek (*Pangium edule* Reinw.) secara *in vitro*?

## 1.3 Tujuan

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan:

1. Mengetahui interaksi macam eksplan dengan berbagai macam konsentrasi 2,4 D terhadap induksi kalus Kluwek (*Pangium edule* Reinw.) secara *in vitro*
2. Mengetahui pengaruh macam eksplan Kluwek (*Pangium edule* Reinw.) terhadap induksi kalus secara *in vitro*

3. Mengetahui pengaruh macam konsentrasi 2,4 D terhadap induksi kalus Kluwek (*Pangium edule* Reinw.) secara *in vitro*

#### 1.4 Manfaat

Penelitian ini diharapkan menjadi langkah perbanyak *Pangium edule* Reinw. melalui kultur *in vitro*. Harapan akhir Kluwek secara berkelanjutan gencar dibudidayakan, diteliti, dan dimanfaatkan sebagai tanaman multi guna bernilai konservasi dan ekonomi alternatif sehingga setiap stakeholders dapat menggunakannya sesuai kebutuhan secara arif dan bijaksana untuk kemandirian bangsa, berdaulat, dan berkeadilan tanpa merusak sumber asli di hutan.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Kluwek (*Pangium edule* Reinw.)

Kluwek sebagai salah satu spesies yang jarang ditemui keberadaannya, dapat ditemukan di beberapa lahan hutan, salah satunya di kawasan hutan reboisasi wanatani milik Taman Nasional Meru Betiri bersama masyarakat sekitar kawasan hutan. Badjongga dan Simajuntak (2007), Kluwek adalah pohon setinggi 40 meter dan berdiameter batang 2,5 meter. Daerah penyebarannya hampir mencakup seluruh Nusantara. Bisa tumbuh secara liar di daerah pada ketinggian 1000 meter di atas permukaan laut. Tanaman ini mulai berbuah pada umur 15 tahun dan terjadi di awal musim hujan. Yohar (2012), pohon *Pangium edule* Reinw. termasuk suku Achariaceae (dulu dimasukkan dalam suku Flacourtiaceae). Tumbuhan ini berbentuk pohon yang tumbuh liar atau setengah liar, umumnya tumbuh di daerah dataran tinggi dan dapat ditemukan tumbuh alami dan liar di sekitar daerah aliran sungai. Orang Sunda menyebutnya Picung, Pucung atau Kluwek, di Toraja disebut Panarassan dan di Minangkabau disebut Simaung. Kluwek termasuk kelompok pohon besar, menyebar luas di dataran rendah sampai ke daerah perbukitan. Perakaran pohon sangat kuat, memiliki akar banir yang kokoh dengan akar tunggang yang kuat menembus ke dalam tanah. Bentuk fisik ini sangat cocok untuk pohon pelindung yang digunakan dalam penghijauan daerah aliran sungai, rawan longsor dan untuk konservasi tanah dalam konsentrasi tinggi.

Klasifikasi Klasifikasi Ilmiah Jenis Pohon Kluwek (Yohar, 2012):

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Malpighiales
Famili	: Achariaceae
Genus	: <i>Pangium</i>
Spesies	: <i>Pangium edule</i>
Nama Ilmiah	: <i>Pangium edule</i> Reinw.

Beberapa persamaan nama Pohon Kluwek di beberapa daerah di Indonesia:

Sumatera : Kapayang, Lapencuang, Kapecong, Simaung (Minangkabau, Bengkulu, Jambi); Hapesong (Toba); Kayu tuba (Lampung); Jeho (Pulau Enggano)

Jawa : Pucung (Jakarta); Pacung, Picung, Pucung (Jawa Barat); Kluwek (Jawa Tengah); Kluwak; Kluwek (Jawa Tengah, Banyuwangi)

Bali : Pangi

Nusa Tenggara : Kalowa (Sumbawa)

Sulawesi : Kalowa (Sulawesi); Pangi (Bugis)

Irian Jaya : Awaran (Manokwari)



Gambar 2.1 Searah Jarum Jam: Kecambah Kluwek *Pangium edule* Reinw., Pohon, Daun, Bunga, Buah (Yohar, 2012)

Orang Amerika menyebutnya football fruit karena bentuk buahnya yang mirip bola football ala Amerika. Sedangkan di Indonesia dikenal dengan nama Pakem atau Pangi. Nama Picung berasal dari bahasa Sunda, beberapa masyarakat menyebutnya Pucung. Tiap daerah memiliki nama yang khas. Orang Betawi menyebutnya Pucung, orang Minangkabau menyebutnya Kapayang, Lapencuang, Kapecong, dan Simaung. Orang Lampung menyebutnya kayu tuba buah. Masyarakat Jawa mengenal dengan nama Kluwek. Masyarakat Sumatra Utara menyebutnya dengan nama Hapesong. Sedangkan orang Bugis dan Bali menyebutnya dengan nama Pangi.

## **2.1.1 Daun**

Kluwek berdaun tunggal, dengan bulu halus lembut pada bagian bawah daun, bentuk daun bulat telur atau bulat, berukuran 15-20 cm, dengan ujung runcing dan pangkal tumpul berbentuk hati. Daun dengan pertulangan menjari yang menonjol di bagian bawah maupun atas dengan tepi daun rata. Warna daun hijau mengkilap di bagian atas dan hijau kecoklatan di bagian bawah. Tangkai daun silindris dengan panjang 10-15 cm. Kedudukan sedikit berhadapan atau spiral (opposite) yang terkumpul pada ranting. Tempat tangkai daun akan berbekas jelas pada ranting setelah daun gugur. Daun Kluwek memiliki musim gugur, daunnya akan gugur saat buah agung atau panen raya. Daun-daun mulai gugur ketika buah sudah tua dan akan tumbuh kembali daun muda setelah berbuah (Yohar, 2012).

## **2.1.2 Bunga**

Kluwek memiliki bunga majemuk berbentuk tandan, memiliki tangkai bunga, daun pelindung, dasar bunga, mahkota bunga, benang sari dan putik. Ketika Bunga mekar akan berwarna kekuningan-hijau atau keputihan, memiliki bau samar, dengan ukuran kelopak 1-2 cm, mahkota panjang 5-8 cm, pangkal berambut hijau muda. Setiap tangkai memiliki 3-4 kuntum bunga yang mekar tidak serentak. Kelopak bunga tujuh helai, dalam satu tangkai biasanya satu bunga yang menjadi buah. Tata letak susunan bunga Axillary atau bunga-bunga tersusun

pada ketiak daun dan umumnya di bagian dekat ujung ranting. Sebelum kembang bunga berbentuk bulat berwarna coklat muda dengan bagian atas bersudut. Pohon Kluwek berbunga satu kali dalam setahun, dimulai pada bulan Desember atau Januari. Namun pada musim perubahan dari kemarau kemusim hujan atau sebaliknya kadang-kadang tumbuh beberapa kuntum bunga yang kemudian menjadi buah selang (Yohar, 2012).

### **2.1.3 Buah**

Buah buni, bulat telur berbentuk membulat liontin berkulit tebal, ukuran diameter 10 sampai 20 cm, buah muda bulat memanjang berwarna coklat muda, buah tua coklat kehitaman. Tangkai buah Kluwek pendek 1,5-2 cm, berat buah segar 1,3 – 1,9 Kg dengan diameter 10-16 cm, dalam satu buah umumnya berbiji 10-15 biji. Pada pohon-pohon tua, akan memiliki buah yang besar dan biji di dalamnya dapat mencapai 25 butir. Daging buah berwarna putih pucat saat mentah dan kekuningan, kuning telur jika sudah masak, lunak berlendir, dan beraroma khas. Jika telah masak, buah Kluwek akan lepas dari tangkainya dan jatuh, daging buah akan lunak dan cepat membusuk setelah masak sempurna. Pohon Kluwek mulai berbuah setelah umurnya diatas 10 tahun namun ada juga yang berbuah pada umur 7-8 tahun jika dirawat dengan baik (Yohar, 2012).

Musim berbuah tidak diketahui secara pasti, karena musim berbuahnya tidak beraturan dan tidak sama dengan musim buah-buah lain di sekitarnya (seperti duku dan durian). Hanya diketahui, dalam satu tahun 1- 2 kali musim buah, akan tetapi Kluwek pada umumnya selalu menghasilkan buah walaupun jumlahnya sedikit. Saat survey, beberapa pohon ada yang berbuah 20-100 buah dan ada yang sama sekali belum berbuah. Jika musim buah, jumlah buah Kluwek dapat mencapai 500-700 buah perbatang bahkan lebih tergantung besarnya pohon. Beberapa informasi menyebutkan buah Kluwek masak sekitar bulan September - Desember. Sedangkan di Merangin Jambi dikenal buah Kluwek sebagai buah haji karena buahnya banyak masak pada bulan Dzulhijjah, saat Hari Raya Haji atau Hari Raya Idul-Adha (Yohar, 2012).

## 2.1.4 Biji

Biji berukuran 3 sampai 5 cm, pipih, agak bersudut, tertanam dalam daging buah. Kulit biji keras berkayu, kasar dan beruras seperti urat, agak bulat bersudut, mata biji di bagian pipih datar dengan kulit agak menonjol dan tipis. Biji Kluwek memiliki cangkang berkayu (tempurung) yang keras, sehingga memungkinkan untuk penyimpanan dalam waktu yang cukup lama, namun kondisi ini menyebabkan proses perkecambahan memerlukan perlakuan agar dapat cepat berkecambah dan tumbuh (Yohar,2012).

Memiliki daging biji (kotiledon) yang tebal, berwarna putih pucat dan putih kecoklatan setelah direbus. Berat biji kering antara 0,025-0,03 Kg dengan perbandingan berat tempurung dan daging biji 1:2 atau berat dagingnya rata-rata sebesar 60% dari total berat biji. Biji Kluwek telah lama teridentifikasi mengandung gynocardine hasil dehidrolisis enzim gynocardase menjadi glucose cyanohydrin yang tidak stabil dan membentuk sianida. Kandungan sianida tertinggi terdapat dalam biji, diikuti oleh buah, daun, batang dan akar (Yuningsih, 2008 dalam Yohar, 2012).

## 2.1.5 Batang dan Akar

Kluwek merupakan tumbuhan yang memiliki batang berkayu dengan bentuk besar tinggi menjulang. Bentuk batang berlekuk dangkal dengan pangkal batang berbanir (banir kuncup). Perkembangan batang pokok tidak terbagi (batang monopodial), kulit batang licin dan kadang memiliki retakan sedikit kasar pada pohon tua. Memiliki akar yang kuat dengan akar tunggang menembus tanah dalam, berwarna kuning. Jika tumbuh di daerah tebing berbatu maka akarnya akan mencengkram kuat dengan pertumbuhan akar yang cepat (Yohar, 2012).

## 2.1.6 Habitat

Pohon Kluwek dapat tumbuh dengan baik pada berbagai kondisi habitat karena keunggulannya sebagai tanaman bernilai konservasi. Berdasarkan penelitian Heriyanto dan Subiandono (2008), diketahui suhu udara pada habitat Kluwek berkisar antara 24 - 30°C. Kelembaban udara berkisar antara 50 - 80%

(musim kemarau), pada musim hujan berkisar antara 70 - 100%. Tingginya kelembaban udara tercermin dari permukaan tanah yang basah dan cepatnya laju bahan organik menjadi serasah. Pada keadaan yang terbuka di daerah hutan tropik basah, kelembaban cenderung tinggi walaupun pada musim kemarau. Curah hujan di kawasan ini berkisar antara 2.544 - 3.478 mm per tahun, musim hujan terjadi antara bulan November - Maret dan musim kemarau antara bulan April - Oktober. Pohon Kluwek terdapat pada daerah dengan ketinggian antara 15 - 306 m di atas permukaan laut. Pohon Kluwek banyak ditemukan di tepi sungai dan tanah berlereng dan penyebarannya cenderung mengelompok dan banyak tumbuh pada lahan dengan kemiringan 31 - 40%. Jenis tanah Latosol dengan tekstur geluh lempungan dengan pH antara 5,5-6,5.

## 2.2 Status Konservasi dan Pemanfaatan

*Pangium edule* Reinw. berdasarkan status konservasi menurut Red List *International Union for Conservation of Nature* IUCN merupakan plasma nutfah hutan yang dikategorikan tumbuhan asli nusantara dan sedikit dibudidayakan (Gunawan dan Sugiarti, 2015). Masyarakat Indonesia di berbagai wilayah memanfaatkan bagian organ mulai biji, buah, daun, dan seluruh bagian organ lainnya cara yang beragam. Masyarakat Manado Sulawesi Utara memanfaatkan bagian daun dengan mengolahnya menjadi sayuran yang dikenal dengan sebutan sayur pangi buluh. Masyarakat beberapa daerah memanfaatkan kayunya untuk membuat batang korek api, daunnya digunakan sebagai obat cacing dan bijinya sebagai antiseptik. Kulit kayu yang diremas-remas dan ditaburkan di atas air dapat mematikan ikan (tuba ikan) maupun udang. Selain itu, inti biji yang digerus dapat digunakan untuk membersihkan kutu/caplak pada lembu. Masyarakat di Dusun Sempu selain memanfaatkan bagian biji untuk rempah masakan dimanfaatkan pula biji untuk melestarikan hutan dan perbaikan lingkungan.

## 2.3 Perkembangan Riset Kluwek (*Pangium edule* Reinw.)

Banyak jenis-jenis tumbuhan asli Indonesia yang berpotensi ekonomi, tetapi belum dikenal atau barangkali sudah mulai terlupakan. Bahkan beberapa di

antaranya telah dianggap sebagai jenis langka yang mulai terancam punah. Hal ini antara lain karena kurang tersedianya data dan keterangan yang memadai baik mengenai biologi, potensi maupun kemungkinan usaha pengembangan jenis-jenis tersebut. Meskipun berbagai potensi ekonomi telah diketahui, menurunnya minat masyarakat terhadap jenis tumbuhan asli ternyata cukup menghambat berbagai usaha pengembangan (Partomiharjo dan Rugayah, 1989).

Pangi atau pucung merupakan salah satu jenis tumbuhan asli Indonesia yang sudah dikenal baik oleh masyarakat karena banyak manfaatnya. Namun kehadiran jenis ini mulai jarang dijumpai, terutama di Jawa dan Sumatera (Basuni, 1986 dalam Partomiharjo dan Rugayah, 1989). Hampir tiga dekade perkembangan riset mulai bermunculan. Mulai dari ekologi, konservasi, budidaya hingga pemanfaatannya secara mendalam banyak diteliti. Saputra (2001) dalam Ahmad, dkk (2012), hasil penelitian ekstrak air daging biji picung memberikan efek fungistatik berdampak sangat besar terhadap cendawan *F. solani*, dimana dalam uji kualitatif diketahui daging biji picung mengandung berbagai senyawa golongan glikosida sianogenik, alkaloid, flavanoid, saponin, tannin, dan kuinon. Ahmad *et al* (2012) menyatakan, ekstrak daging biji picung pada media PDA dapat menghambat pertumbuhan koloni *Rhizoctonia sp.* Selain itu biji picung dimanfaatkan oleh masyarakat untuk bahan pengawet alami ikan, karena di dalamnya terkandung komponen yang bersifat antimikroba selain HCN, adalah tannin suatu senyawa polifenol yang juga mempunyai sifat antimikroba. Komponen HCN dan tannin inilah yang dapat melawan bakteri pembusuk *Pseudomonas aeruginosa*, *Echerichia coli*, dan *Staphylococcus aureus* (Towaha dan Sasmita, 2010). Senada dengan Anggraeni, dkk (2012), asam sianida dan tannin yang merupakan zat antimikroba dalam biji picung keduanya larut dalam air dan dapat menghambat pertumbuhan koloni *Rhizoctonia sp.* Penggunaan air sebagai pelarut untuk mengekstraksi daging biji picung sangat tepat karena air mudah diperoleh dan aman digunakan. Salaki, dkk (2012) dalam jurnalnya menyatakan, ekstrak kental daun pangi mampu menghambat aktivitas makan dari larva *Plutella xylostella*. Perlakuan dengan menggunakan konsentrasi 10% berpengaruh nyata terhadap larva *P. xylostella* dalam penghambatan aktivitas

makan dan semakin tinggi konsentrasi yang diberikan maka semakin kecil jumlah luas makan (sektor) oleh larva *P. xylostella*.

Riset awal mengenai pengolahan biji menjadi minyak Fatono dan Mahandari (2012), mendapati biji kluwek segar mengandung minyak nabati kasar dengan rendemen sekitar 20 % dari berat kluwek kering. Arini (2012), potensi luar biasa yang dapat dimanfaatkan untuk berbagai macam kegunaan seperti daun digunakan sebagai sayuran, sebagai bahan obat-obatan, sebagai racun ikan, minyak pangi, bahan bumbu masakan, kayu dapat dipakai sebagai bahan bangunan, dan terutama bagi bahan pengawet alami. Riset Bangol, dkk (2014), pada jenis *Pangium edule* Reinw. dilakukan identifikasi jenis organisme diperoleh bahwa jenis tersebut memiliki tingkat kemiripan dengan *Trichadenia aylanical*, 99 % dan diikuti spesies lainnya (*Kiggelaria africanal*, 98%; *Guthriea capensis*, 96%; *Acharia tragodes*, 92%; *Erythrospermum phytolaccoides*, 92%; *Hydnocarpus sp. Chase 1301*, 90%; *Carpotroche longifolia*, 89%; *Moultonianthus leembruggianus*, 89% dan *Pimelodendron zoanthogyne*, 88%). Analisis komposisi asam amino menunjukkan bahwa *matK* *Pangium edule* dan kesembilan spesies tumbuhan lainnya bersifat hidrofobik. Riset kultur jaringan kluwek belum pernah dilakukan oleh peneliti lain (belum ditemukan jurnal kultur jaringan kluwek), karena itu penelitian ini perlu dilakukan.

## **2.4 Media Tanam dan Zat Pengatur Tumbuh *In Vitro***

### **2.4.1 Media Tumbuh**

Penentu di dalam media tumbuh adalah komposisi garam anorganik, zat pengatur tumbuh dan bentuk fisik media. Komposisi garam anorganik telah dikembangkan oleh beberapa ahli. Ada yang tinggi konsentrasinya garamnya, ada yang sedang dan ada yang rendah. Komposisi media tersebut pada umumnya diberi nama sesuai dengan nama penemunya, antara lain: medium dasar Murashige dan Skoog (MS), medium dasar Knop, medium dasar Nitsch dan Nitsch, medium dasar B5 atau Gamborg, medium dasar White, medium dasar Vacin Went (VW), medium dasar N6, medium dasar Heller, medium dasar Woody Plant Medium (WPM), medium dasar Knudson C, medium dasar Schenk

dan Hildebrant, medium dasar Gresshof dan Day dan medium dasar Anderson (Gunawan, 1995).

Komposisi garam dalam medium dasar Murashige dan Skoog (MS) merupakan media yang paling umum digunakan khususnya untuk morfogenesis, kultur meristem, dan regenerasi tanaman (Gamborg dan Shyluk 1981). Medium ini digunakan untuk hampir semua macam tanaman. Media ini punya konsentrasi garam-garam mineral yang tinggi dan senyawa N dalam bentuk  $\text{NO}_3^-$  dan  $\text{NH}_4^+$ . medium dasar Woody Plant Medium (WPM) dan Anderson digunakan untuk menanam tanaman dari eksplan yang keras, umumnya digunakan untuk tanaman berkayu (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

## 2.4.2 Zat Pengatur Tumbuh

Penggunaan zat pengatur tumbuh dalam kultur jaringan tanaman sangat penting, yaitu untuk mengontrol organogenesis dan morfogenesis dalam pembentukan dan perkembangan tunas dan akar serta pembentukan kalus. Ada dua golongan zat pengatur tumbuh tanaman yang sering digunakan dalam kultur jaringan, yaitu sitokinin dan auksin. Penggunaan zat pengatur tumbuh di dalam kultur jaringan tergantung pada arah pertumbuhan jaringan tanaman yang diinginkan. Untuk pembentukan tunas pada umumnya digunakan sitokinin sedangkan untuk pembentukan akar atau pembentukan kalus digunakan auksin. Namun demikian sering pula dibutuhkan keduanya tergantung pada perbandingan/ratio sitokinin terhadap auksin atau sebaliknya. Adanya salah satu zat pengatur tumbuh tertentu dapat meningkatkan daya aktivitas zat pengatur tumbuh lainnya. Jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang tepat untuk masing-masing tanaman tidak sama karena tergantung pada genotipe serta kondisi fisiologi jaringan tanaman. Dalam perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan di samping melalui pembentukan tunas ganda atau tunas adventif dapat pula melalui pembentukan embriosomatik. Dengan teknik tersebut bibit dapat berasal dari satu sel somatik. Sehingga bibit yang dihasilkan persatuan wadah persatuan waktu lebih banyak dibandingkan dari organogenesis. Untuk produksi kalus

embriogenik digunakan auksin kuat seperti 2,4-D, dicamba atau picloram (Lestari, 2011).

Pembentukan dan pertumbuhan kalus dapat dipacu dengan pemberian zat pengatur tumbuh, baik auksin maupun dikombinasikan dengan sitokinin. Teknik kultur *in vitro* juga dapat diaplikasikan untuk memproduksi senyawa kimia alami. Keuntungannya antara lain dapat diperoleh hasil secara cepat, seragam, dan tidak membutuhkan lahan yang luas (Indrayanto, 1988 dalam Rahayu dkk, 2003). Untuk meningkatkan produksi senyawa kimia pada kalus, maka dapat dilakukan manipulasi terhadap media kultur, misalnya dengan penambahan zat pengatur tumbuh tertentu (Toruan et al., 1990 dalam Rahayu dkk, 2003). Zat pengatur tumbuh auksin yang sering ditambahkan dalam media kultur adalah asam 2,4-diklorofenoksiasetat (2,4-D) (Syahid dan Hernani, 2001 dalam Rahayu dkk, 2003). Zat pengatur tumbuh ini bersifat stabil karena tidak mudah mengalami kerusakan oleh cahaya maupun pemanasan pada waktu sterilisasi (Hendaryono dan Wijayani, 1994 dalam Rahayu dkk, 2003). Penambahan 2,4-D dalam media akan merangsang pembelahan dan pembesaran sel pada eksplan sehingga dapat memacu pembentukan dan pertumbuhan kalus serta meningkatkan senyawa kimia alami flavonoid (Rahayu dkk, 2003). Salah satu golongan sitokinin yang sering digunakan dalam metode kultur jaringan adalah BAP, hal ini dikarenakan sifat BAP yang stabil, mudah diperoleh dan lebih efektif dibandingkan kinetin. Pemberian ZPT tersebut pada sel maupun kalus dapat mempengaruhi produksi senyawa metabolit sekunder tertentu (Indah dan Ermavitalini, 2013). Sari dkk (2013) menyatakan, pemberian 2,4-D dan BAP berpengaruh terhadap pertumbuhan kalus batang jati, baik warna maupun tekstur kalus yang dihasilkan.

## 2.5 Hipotesis

1. Adanya interaksi macam eksplan dengan berbagai macam konsentrasi 2,4 D terhadap induksi kalus Kluwek (*Pangium edule* Reinw.) *in vitro*
2. Terdapat pengaruh macam eksplan Kluwek (*Pangium edule* Reinw.) terhadap induksi kalus secara *in vitro*

3. Terdapat pengaruh macam konsentrasi 2,4 D terhadap induksi kalus Kluwek (*Pangium edule* Reinw.) secara *in vitro*



## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian yang berjudul “Pengaruh Macam Eksplan dan Konsentrasi 2,4 D terhadap Induksi Kalus Kluwek (*Pangium edule* Reinw.) secara *In Vitro*” dilaksanakan mulai bulan September sampai dengan November 2016 di Laboratorium Kultur Jaringan Jurusan Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Jember.

### 3.2 Bahan dan Alat

#### 3.2.1 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian terdiri atas: Biji tanaman Kluwek (Kluwak) *Pangium edule* Reinw., Media *Woody Plant Medium* (WPM), ZPT (BAP dan 2,4-D), agar, sukrosa, aquadest, detergen, alkohol 70 %, alkohol 96%, NaOH, HCL, plastic, *tissue*, plastik *wrap*, klorok atau sodium hypochlorite (NaClO), betadine, aluminium foil, dan kertas label.

#### 3.2.2 Alat

Alat yang digunakan adalah *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), *autoclaf*, oven, pH meter, *magnetic stirrer*, timbangan analitik, botol kultur, pipet, mikropipet, *hand sprayer*, *hot plate*, gelas ukur, *beaker glass*, cawan petri, *nutcracker*, peralatan diseksi (pinset besar, pinset kecil, dan pisau scalpel), lampu spirtus (bunsen), lemari pendingin, rak kultur, dan Camera.

### 3.3 Metode Percobaan

Metode percobaan menggunakan Rancangan acak lengkap (RAL) yang tersusun secara faktorial. Percobaan yang dilaksanakan menggunakan 2 faktor perlakuan yaitu; Faktor Pertama: Macam Eksplan yang terdiri dari Daun = E1 dan *Endosperm* = E2. Faktor Kedua Konsentrasi 2,4 D yang terdiri dari 6 taraf: D0 = Kontrol; D1 = 0,2 ppm; D2 = 0,4 ppm; D3 = 0,6 ppm; D4 = 0,8 ppm; D5 = 1 ppm.

Setiap kombinasi tersebut diulang 5 kali, sehingga dihasilkan 60 kombinasi perlakuan. Percobaan disusun berdasarkan Rancangan Acak Lengkap Faktorial sehingga kombinasi perlakuan seperti ditampilkan dalam tabel 1.

Tabel 3.1 Kombinasi Perlakuan Macam Eksplan dan Konsentrasi 2,4 D

Macam Eksplan	Konsentrasi 2,4 D					
	D0	D1	D2	D3	D4	D5
Daun (E1)	E1D0	E1D1	E1D2	E1D3	E1D4	E1D5
Endosperm (E2)	E2D0	E2D1	E2D2	E2D3	E2D4	E2D5

Data penelitian dilakukan analisis secara kualitatif dan kuantitatif. Model matematik dari rancangan penelitian ini adalah sebagai berikut:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha_i \beta_j + \sum_{ijk}$$

Keterangan:

- Y<sub>ijk</sub> = Respon pengamatan individu pada faktor B ke-I, faktor D ke-j dan ulangan ke-k
- μ = Nilai tengah umum
- α<sub>i</sub> = Pengaruh Macam Eksplan pada taraf ke-i
- β<sub>j</sub> = Pengaruh aditif dari kosentrasi larutan 2,4 D pada taraf ke-j
- α<sub>i</sub> β<sub>j</sub> = Pengaruh interaksi antara konsentrasi BAP pada taraf ke-i dengan 2,4 D pada taraf ke-j
- ∑<sub>ijk</sub> = Pengaruh galat percobaan yang bekerja pada satuan percobaan pada blok ke-k yang mendapat perlakuan faktor

Data yang diperoleh akan dianalisis menggunakan analisis ragam ANOVA untuk mengetahui apakah ada pengaruh perlakuan terhadap parameter pengamatan. Apabila didapatkan hasil perbedaan yang nyata diantara perlakuan-perlakuan tersebut, maka analisis akan dilakukan uji lanjutan dengan uji Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan taraf 5%.

### 3.4 Pelaksanaan Percobaan

#### 3.4.1 Percobaan Pendahuluan Persiapan Bahan Tanam

Persiapan bahan tanam dilaksanakan untuk mendapatkan tanaman baru

kluwek dan organ yang digunakan sebagai bahan tanam kultur *in vitro* salah satunya yakni bagian daun. Persiapan paling awal untuk mendapatkan tanaman kluwek adalah dengan mempersiapkan media tanam diantaranya, tanah permukaan dan pasir dengan perbandingan 1:1. Media yang sudah tercampur menjadi satu siap digunakan untuk menyemaikan biji kluwek. Biji yang digunakan untuk semai berasal dari pohon dengan usia lebih dari 100 tahun yang tumbuh di dalam hutan hujan tropis Taman Nasional Meru Betiri. Biji-biji tersebut disemaikan dengan jarak antar biji 15 sampai dengan 20 cm. Sebagian lagi digunakan untuk diambil bagian endosperm sebagai bahan tanam.

### 3.4.2 Sterilisasi Alat

Alat yang digunakan harus dalam keadaan steril. Sterilisasi alat kerja untuk penanaman menggunakan air dan sabun, membungkus alat dengan plastik (kecuali botol kultur) dan disterilisasi dengan menggunakan *autoclaf* pada tekanan 17,5 Psi selama 45 pada suhu 121° C. Selanjutnya alat yang disterilisasi, dikeringkan didalam oven pada suhu 160-180°C. Sebelum penanaman, alat-alat logam disemprot dengan alkohol 70 % dan dibakar dengan cara melewatkannya pada api Bunsen.

### 3.4.3 Sterilisasi Ruang Tanam

Sterilisasi ruang tanam dilakukan dengan penyemprotan alkohol 70 % dilanjutkan memberikan penyinar sinar radiasi *Ultra Violet* permukaan LAFC selama 30 menit sebelum penanaman.

### 3.4.4 Pembuatan dan Sterilisasi Media Tanam

Pembuatan media 1 liter *Woody Plant Medium* (WPM) dilaksanakan dengan mengambil dan menakar masing-masing larutan stok sesuai dengan perlakuan dan ukuran yang telah ditentukan kemudian memasukkannya ke dalam *beaker glass*. Bahan-bahan tersebut dilarutkan dengan aquadest sampai volume larutan mencapai 250 ml ( $\frac{1}{4}$  liter). Kemudian ditambahkan gula (sukrosa) sebanyak 30 g dan agar sebanyak 8 g. Larutan dimasukkan dalam *beaker glass*,

kemudian volume larutan ditambah dengan aquadest hingga mencapai 1 liter dan diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer*. Larutan dikondisikan pada pH 5,8 dengan menambahkan NaOH bila pH terlalu rendah dan bila pH terlalu tinggi ditambahkan dengan HCl. Larutan dididihkan dengan menggunakan *hot plate*. Setelah mendidih, larutan tersebut dituangkan ke botol kultur  $\pm$  25 ml setiap botolnya ditambahkan ZPT sesuai kombinasi perlakuan. Botol ditutup dengan aluminium foil. Media disterilisasi dengan autoclave pada suhu 121°C, tekanan 17,5 Psi selama 45 menit. Setelah itu, botol-botol ditempatkan pada rak-rak kultur.

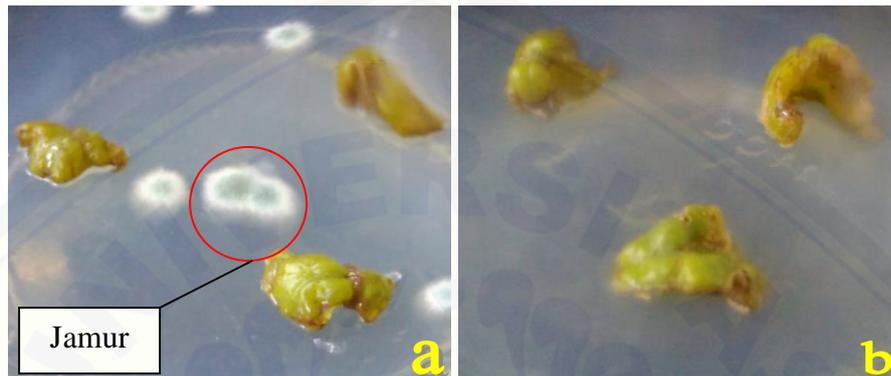
### **3.4.5 Sterilisasi Eksplan dan Penanaman**

Sterilisasi eksplan bertujuan untuk mendapatkan eksplan yang aman tidak terkontaminasi mikroorganisme. Kontaminasi terjadi karena mikroorganisme yang terbawa dari lapangan ke ruang sterilisasi dan juga dikarenakan metode sterilisasi yang digunakan tidak tepat dan tidak sesuai untuk eksplan yang digunakan sebagai bahan tanam. Metode sterilisasi yang tepat dan sesuai digunakan menentukan keberhasilan pada proses kultur *in vitro*.

#### **3.4.5.1 Sterilisasi Eksplan Daun**

Sterilisasi eksplan daun dilaksanakan dalam beberapa tahapan. Daun yang digunakan adalah daun yang masih muda usia 3-4 hari dengan ciri visual berwarna hijau pucat. Daun yang digunakan sebagai eksplan dibilas dengan air mengalir pada seluruh permukaan daun  $\pm$  5 menit. Eksplan yang sudah dibilas dikeringkan dengan kertas tisu, eksplan yang kering kemudian dibungkus dengan tisu yang sudah disemprot dengan alkohol 70 %, dimasukkan ke dalam botol steril dan ditutup dengan tisu kering. Selanjutnya eksplan yang telah bersih dibawa ke *Laminar Air Flow* untuk dilaksanakan tahapan sterilisasi lebih lanjut. Sterilisasi berikutnya dilaksanakan dengan menggojok eksplan dengan alkohol 70 % selama 30 detik, dilanjutkan dengan melarutkan klorox 20 mL dan air steril 80 mL dalam 100 mL larutan. Kemudian, sebanyak 50 mL larutan ditambah penggunaan tween pada penggojogan pertama selama 3 menit dan membilasnya sebanyak dua kali

selama 3 menit. Sisa larutan 50 mL digunakan untuk tahap kedua selama 3 menit, kemudian dilanjutkan dengan pembilasan dengan aquadest steril sebanyak 3 kali selama 3 menit. Berikutnya melakukan pemotongan eksplan daun dengan ukuran  $\pm 0,5$  cm di dalam larutan iodine dan air steril, dilanjutkan penirisan. Potongan eksplan daun yang telah ditiriskan ditanam pada media yang telah disiapkan.



Gambar 3.1 (a) Kontaminasi Jamur pada Eksplan Daun 1 MST dengan Metode Sterilisasi Pembilasan ditambah Sabun dan (b) Eksplan Daun yang Aman dari Kontaminasi 2 MST dengan Metode Sterilisasi Pembilasan tanpa Menggunakan Sabun

#### 3.4.5.2 Sterilisasi Eksplan *Endosperm*

Sterilisasi *Endosperm* biji kluwek, biji yang digunakan adalah biji dengan *Endosperm* yang masih berwarna putih bukan berwarna coklat ataupun hitam. Biji dengan *Endosperm* berwarna putih mengindikasikan bahwa, *Endosperm* biji masih segar dan jaringannya belum mati (Gambar 3.2 a). Sedangkan biji dengan *Endosperm* berwarna coklat (Gambar 3.2 b) sampai dengan hitam (Gambar 3.2 c) mengindikasikan bahwa, biji mati dan tidak bisa digunakan sebagai eksplan pada kultur *in vitro*.



Gambar 3.2 Eksplan *Endosperm* Biji Kluwek

Pelaksanaan penelitian yang dilaksanakan menggunakan bahan tanam berupa ekplan biji Kluwek yang tergolong sebagai biji bertempurung. Sterilisasi yang digunakan terbagi menjadi dua macam bagian. Bagian pertama sterilisasi kulit tebal dengan cara mencuci bersih biji dengan air sabun dan sikat sampai permukaan biji terasa kesat. Selanjutnya sterilisasi menggunakan klorok dengan konsentrasi 20 mL sampai penampakan cangkang biji berwarna putih, kemudian dicelupkan dalam alkohol 96 % dan membakarnya di atas bunsen. Bagian kedua memecahkan cangkang dengan *nutcracker* di dalam *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC). Cangkang yang telah dipecah diambil *Endosperm*-nya, kemudian dilakukan sterilisasi tahap pertama dengan meletakkan *Endosperm* dalam wadah berisi air steril dan betadine. Selanjutnya membilas dengan *aquadest* steril sebanyak 2 kali selama 3 menit. Eksplan diangkat, ditiriskan, dan dibelah menjadi beberapa bagian kemudian menanamnya pada media praperlakuan selama 3 hari untuk mendapatkan eksplan steril yang siap ditanam pada media perlakuan. Botol berisi eksplan ditutup dengan aluminium foil dan melapisinya dengan plastik wrap. Setiap botol kultur perlakuan terdiri masing-masing empat tiga potongan *Endosperm* yang telah dibelah.



Gambar 3.3 (a) Kontaminasi Jamur, (b) Kontaminasi Bakteri dan (c) Keberhasilan Sterilisasi

#### 3.4.6 Pemeliharaan

Pemeliharaan botol-botol kultur berisi eksplan dengan menjaga kebersihan ruang inkubasi dan permukaan luar botol, untuk menghindari kontaminasi dilaksanakan penyemprotan alkohol setiap dua hari sekali. Subkultur dilaksanakan 2 kali selama 3 bulan penanaman

### 3.5 Parameter Pengamatan

Penelitian yang dilaksanakan dan diamati selama 3 bulan menggunakan beberapa parameter pengamatan untuk mengetahui respon Macam Eksplan dan pengaruh Konsentrasi 2,4 D terhadap Induksi Kalus Kluwek (*Pangium edule* Reinw.) secara *In Vitro* yaitu:

#### 1. Kedinian Munculnya Kalus

Kedinian munculnya kalus dilihat berdasarkan awal terbentuknya kalus pada eksplan kluwek yang diamati. Pengamatan dilakukan setiap hari sekali sampai kalus muncul untuk pertama kali.

#### 2. Persentase Eksplan yang Membentuk Kalus

Persentase eksplan yang membentuk kalus dihitung berdasarkan jumlah eksplan kluwek yang tumbuh dan membentuk kalus dibagi dengan jumlah eksplan yang ada di dalam botol pada media yang diamati, kemudian dikalikan 100%. Pengamatan tersebut dilaksanakan di akhir pengamatan

#### 3. Berat Kalus

Berat kalus dihitung berdasarkan nilai penambahan biomassa pada eksplan Kluwek berkalus pada. Pengamatan dilakukan saat awal tanam eksplan dan akhir pengamatan.

#### 4. Warna Kalus

Warna kalus dilihat menggunakan *Munsell Color Charts for Plants Tissues* berdasarkan eksplan kluwek yang membentuk kalus. Pengamatan dilakukan di akhir pengamatan. Penentuan nilai warna kalus, penentuan nilai warna kalus ditetapkan berdasarkan skoring:

0 = eksplan mati dan tidak terbentuk kalus

1 = coklat,

2 = putih kecoklatan,

3 = hijau kecoklatan,

4 = putih kekuningan,

- 5 = hijau kekuningan,
- 6 = hijau keputihan, dan
- 7 = hijau

(Thomy, 2012 dalam Gultom, dkk., 2015)

#### 5. Tekstur Kalus

Tekstur kalus dilihat berdasarkan eksplan Kluwek yang membentuk 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

(Thomy, 2012 dalam Gultom, dkk., 2015)

## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil beberapa kesimpulan, sebagai berikut:

1. Interaksi sangat nyata antara eksplan dengan 2,4 D berpengaruh sangat nyata terhadap semua pengamatan diantaranya: eksplan daun dengan pemberian konsentrasi 0,8 ppm 2,4 D terbaik dalam kedinian kalus dan tekstur kalus, eksplan daun dengan pemberian konsentrasi 1 ppm 2,4 D terbaik dalam persentase terbentuknya kalus dan warna kalus, eksplan daun dengan pemberian konsentrasi 0,4 ppm dan 1 ppm 2,4 D terbaik dalam berat kalus
2. Pengaruh macam eksplan paling baik adalah dengan menggunakan eksplan daun dimana pada semua pengamatan daun memberikan pengaruh terbaiknya untuk menginduksi kalus Kluwek (*Pangium edule* Reinw.)
3. Pengaruh konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4 D terhadap induksi kalus paling baik pada semua pengamatan berturut-turut yakni konsentrasi 2,4 D sebesar 0,8 ppm, 0,1 ppm, dan 0,4 ppm

### 5.2 Saran

Perlu dilaksanakannya penelitian lebih lanjut tentang kultur *in vitro* tanaman Kluwek (*Pangium edule* Reinw.) secara berkelanjutan. Baik uji media, uji berbagai zat pengatur tumbuh dengan konsentrasi yang lebih bervariasi, kombinasi zat pengatur tumbuh, uji berbagai macam organ sebagai eksplan, dan kultur suspensi.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Ahmad, Anggraeni, I., Herliyana, EN., Asrori, A., dan Rijal, S. 2012. Keefektifan Penghambatan Ekstrak Daging Biji Picung terhadap Pertumbuhan *Rhizoctonia* sp. Dan *Cylindrocladium* sp. Secara *In Vitro*. *J. Hort.*, 22 (3): 268-275.
- Ali, A., Ahmad, T., Abbasi, N.A, dan Hafiz, I.A. 2009. Effect of Different Media and Growth Regulators on *In Vitro* Shoot Proliferation of Olive Cultivar 'moraiolo'. *Pak. J. Bot.*, 41(2): 783-795.
- Arini, D.I.D. 2012. Potensi Pangi (*Pangium edule* Reinw.) Sebagai Bahan Pengawet Alami dan Prospek Pengembangannya di Sulawesi Utara. *BPK Manado*, 2 (2) : 103-114.
- Bangol, I., Momuat, L.I., dan Kumaunang, M. 2014. Barcode DNA Tumbuhan Pangi (*Pangium edule* R.) Berdasarkan Gen *matK*. *JURNAL MIPA UNSRAT*, 3 (2) 113-119.
- Gultom, M.S., Anna, N., dan Siregar, E.B.M. 2012. Respon Eksplan Biji Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk.) terhadap Pemberian IAA secara *In Vitro*. *Peronema Forestry Science Journal*, 1 (1): 1-6.
- Gunawan, LW. 1995. Teknik Kultur *In Vitro* dalam Hortikultura. PT Penebar Swadaya, Jakarta.
- Gunawan, H., dan Sugiarti. 2015. Pelestarian Keanekaragaman Ex Situ Melalui Pembangunan Taman Kehati oleh Sektor Swasta: *Lesson learned* dari Group Aqua Danone Indonesia. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon*, 1(3): 565-573.
- Hasanah, M., dan Rusmin, D. 2006. Teknologi Pengelolaan Benih Beberapa Tanaman Obat di Indonesia. *Jurnal Litbang Pertanian*, 25 (2): 68-73.
- Hendaryono, DPS., dan Wijayani A. 1994. Teknik Kultur Jaringan. Kanisius, Yogyakarta.
- Heriyanto, N. M., dan Subiandono, Endro. 2008. Ekologi Pohon Kluwak/Pakem (*Pangium edule* Reinw.) di Taman Nasional Meru Betiri, Jawa Timur. *Buletin Plasma Nutfah*, 14 (1): 33-42.

- Indah, P.N., dan Ermavitalini, D. 2013. Induksi Kalus Daun Nyamplung (*Calophyllum inophyllum* Linn.) pada Beberapa Kombinasi Konsentrasi 6-Benzylaminopurine (BAP) dan 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D). *Jurnal Sains dan Seni Pomits*, 2 (1): 1-6.
- Karjadi, A.K., dan Buchory, A. 2008. Pengaruh Auksin dan Sitokinin terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Jaringan Meristem Kentang Kultivar Granola. *J. Hort.*, 18 (4): 380-384.
- Kartika, L., Atmodjo, P.K., dan Purwijantiningsuh, L.M.E. 2014. Kecepatan Induksi Kalus dan Kandungan Eugenol Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz and Pav.) yang diperlakukan Menggunakan Variasi Jenis dan Konsentrasi Auksin. *e-journal uajy*, 1 (1): 1-15.
- Lestari, E.G. 2011. Peranan Zat Pengatur Tumbuh dalam Perbanyakkan Tanaman Melalui Kultur Jaringan. *Jurnal AgroBiogen*, 7 (1): 63-68.
- Lestari, E., Nurhidayati, T., dan Nurfadilah, S. 2013. Pengaruh Konsentrasi ZPT 2,4-D dan BAP terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Biji *Dendrobium laxiflorum* J.J Smith secara *In Vitro*. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*, 2 (1): 2337-3520.
- Malik, S. I., Rashih, T., Yasmin, dan N. M. Minhas. 2003. Effect of 2,4 Dichlorophoxyacetic acid on Callus Induction from Mature Wheat (*Triticum aestivum* L.) Seeds. *Ints. Agri. Bid*, 6 (1).
- Nofanda, H., Rahayu, T., dan Hayati, A. 2016. Peranan Penambahan BAP dan NAA pada Pertumbuhan Kalus Kedelai (*Glycine max*) Menggunakan Media B5. *e-Jurnal Ilmmiah Biosaintropis (BIOSCIENCE-TROPIC)*, 2 (1): 35-45.
- Partomihardjo, T., Rugayah. 1989. Pangi (*Pangium edule* Reinw.) dan Potensinya yang Mulai Terlupakan. *Media Konservasi*, 2 (2): 45-50.
- Rahayu, B., Solichatun, dan Anggarwulan, E. 2003. Pengaruh Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) terhadap Pembentukan dan Pertumbuhan Kalus Serta Kandungan Flavonoid Kultur Kalus *Acalypha indica* L. *Biofarmasi*, 1 (1): 1-6.
- Salaki, C.L., Paendong, E., dan Pelealu, J. 2012. Biopestisida dari Ekstrak Daun Pangi (*Pangium* sp.) terhadap Serangga *Plutella xylostella* di Sulawesi Utara. *Eugenia*, 18 (3): 171-177.

- Sari, N., Ratnasari, E., dan Isnawati. 2013. Pengaruh Pengaruh Penambahan Berbagai Konsentrasi 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan 6-Benzil Aminopurin (BAP) pada Media MS terhadap Tekstur dan Warna Kalus Eksplan Batang Jati (*Tectona grandis* Linn. F.) "JUL". *LenteraBio*, 2 (1) : 70.
- Towaha, J., dan Sasmita, K. D. 2010. Seberapa Aman Penggunaan Biji Picung Sebagai Pengawet Alami. *Majalah Semi Populer Tree Tanaman Rempah dan Industri*, 1 (2): 77.
- Trisna, N., H. Umar, dan Irmasari. 2013. Pengaruh Berbagai Zat Pengatur Tumbuh terhadap Petumbuhan *Stump* Jati (*Tectona grandis* L. F.). *Warta Rimba*, 1 (1).
- Wattimena, GA. 1992. *Bioteknologi Tanaman*. Departemen P dan K. Dirjen Pendidikan Tinggi. PAU Bioteknologi Bogor.
- Yohar, Supintri. 2012. *Kepayang Tanaman Konservasi Bernilai Ekonomi*. Yayasan Genesis, Mukomuko.
- Zulkarnain, dan Lizawati. 2011. Proliferasi Kalus dari Eksplan Hipokotil dan Kotiledon Tanaman Jarak Pagar (*Jathropa curcas* L.) pada Pemberian 2,4 D. *Jurnal Natur Indonesia*, 14 (1): 19-25. ISSN 1410-9.

LAMPIRAN

A. Komposisi Media dasar Woody Plant Medium (WPM)

No	Kode Stok	Unsur	mg/liter	Stok yang diambil untuk 1 liter Media (mL/g)
1	A	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	400	10
2	B	CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	96	5
3	C	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> . 2H <sub>2</sub> O	556	10
4	D	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	370	10
5		KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170	
6	E	K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	990	10
7	F	FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	27,8	5
8		Na <sub>2</sub> EDTA	37,3	
9	Mikro	MnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O	22,3	5
10		H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6,2	
11		ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	8,6	
12		CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0,25	
13		CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,25	
10	Myo	Myo inositol	100	10
11	Vitamin	Glycine	2	1
12		Thiamine HCl	1	
13		Nicotinic acid	0.5	
14		Pyridoxin HCl	0.5	
15	Gula	Gula	30000	30 g
16		Agar	8000	8 g

(Ali, dkk, 2009)

**B. Sumber Eksplan**

**B.1 Daun Kluwek (*Pagium edule* Reinw.)**



1. Daun Kluwek Usia 1 Hari



2. Daun Kluwek Usia 2 Hari

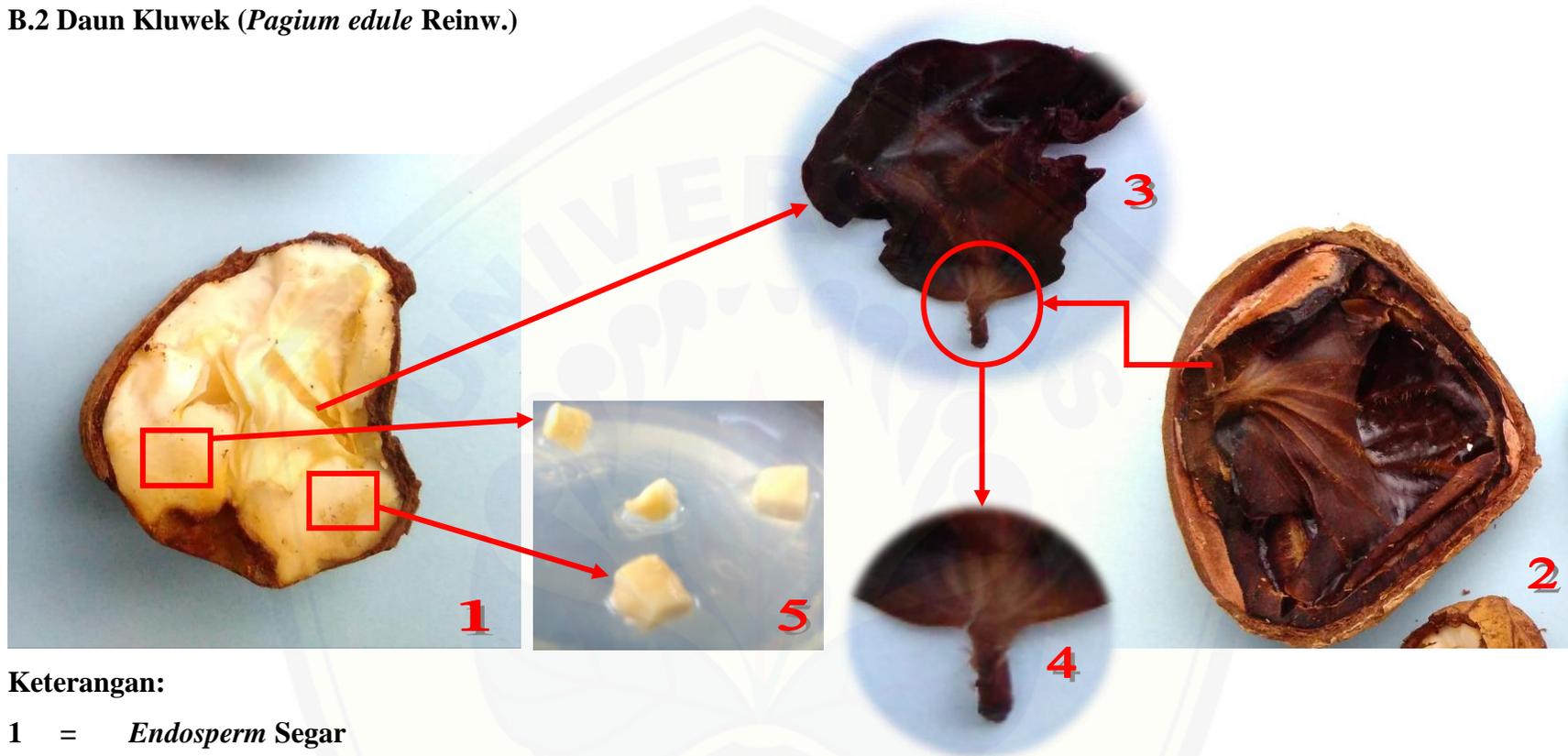


3. Daun Kluwek Usia 3 Hari



4. Daun Kluwek Usia 4 Hari

B.2 Daun Kluwek (*Pagium edule* Reinw.)



Keterangan:

- 1 = *Endosperm Segar*
- 2 = *Endosperm Mati*
- 3 = **Bakal Daun Kluwek**
- 4 = **Embrio Kluwek**
- 5 = **Potongan *Endosperm* sebagai Eksplan**

C. Pertumbuhan Kalus Kluwek (*Pagium edule* Reinw.) pada Uji Pendahuluan

C.1 Pertumbuhan Kalus dari Eksplan Daun



Gambar C.1.1 Eksplan Daun dan Pertumbuhan Kalus pada Uji 2,4 D 1 ppm dengan BAP 1 ppm: (a) Eksplan 0 MST (b) Eksplan 1 MST dengan respon daun melengkung (c) dan (d) Eksplan 2 MST Kedinian Kalus

C.2 Pertumbuhan Kalus dari Eksplan Endosperm



Gambar C.1.2 Eksplan *Endosperm* dan Pertumbuhan Kalus pada Uji 2,4 D 1 ppm dengan BAP 1 ppm: (a) Eksplan 0 MST; (b) Eksplan 2 MST; (c) Eksplan 4 MST; (d) Eksplan 6 MST; (e) Eksplan 8 MST

**D. Data Kedinian Kalus**

**D.1 Data Pengamatan Kedinian Kalus**

Perlakuan	Ulangan					Total	Rata-rata	
	1	2	3	4	5			
Daun	2,4 D 0	90	90	90	90	90	450.00	90.00
	2,4 D 0.2	90	90	90	90	90	450.00	90.00
	2,4 D 0.4	90	90	14	14	14	222.00	44.40
	2,4 D 0.6	90	90	17	14	16	227.00	45.40
	2,4 D 0.8	14	14	14	14	14	70.00	14.00
	2,4 D 0.1	13	14	14	14	16	71.00	14.20
<i>Endosperm</i>	2,4 D 0	90	90	90	90	90	450.00	90.00
	2,4 D 0.2	22	19	90	90	90	311.00	62.20
	2,4 D 0.4	22	20	20	22	22	106.00	21.20
	2,4 D 0.6	22	20	90	19	90	241.00	48.20
	2,4 D 0.8	90	90	90	90	90	450.00	90.00
	2,4 D 0.1	90	90	90	90	90	450.00	90.00
Total		723.00	717.00	709.00	637.00	712.00	3498.00	
Rata-rata		60.25	59.75	59.08	53.08	59.33		58.30

**FK 203933.4**

**D.2 Analisis Ragam (ANOVA)**

SUMBER KERAGAMAN	db	JK	KT	F-Hitung		F-Tabel 5 %	F-Tabel 1 %
Perlakuan	11	53925.00	4902.2727	9.34	**	1.99	2.64
Eksplan	1	4472.07	4472.0667	8.52	**	4.04	7.19
Konsentrasi	5	21823.60	4364.7200	8.31	**	2.41	3.43
EksplanxKonsentrasi	5	27629.33	5525.8667	10.52	**	2.41	3.43
Error	48	25205.60	525.1167				
<b>Total</b>	<b>59</b>	<b>79130.60</b>					

**CV**

**39.31**

Keterangan:

tn = tidak berpengaruh nyata (Nilai F-Hitung  $\leq$  nilai F-Tabel pada taraf 5%)

\* = berpengaruh nyata (nilai F-Hitung < nilai F-Tabel pada taraf 1% dan nilai F-Hitung > F-Tabel pada taraf 5%)

\*\* = berpengaruh sangat nyata (nilai F-Hitung > nilai F-Tabel pada taraf 1%)

**E. Persentase Eksplan yang Membentuk Kalus**

**E.1 Data Pengamatan Persentase Eksplan yang Membentuk Kalus**

Perlakuan	Ulangan					Total	Rata-rata
	1	2	3	4	5		
Daun	2,4 D 0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	2,4 D 0.2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	2,4 D 0.4	0.00	0.00	33.33	33.33	100.00	166.67
	2,4 D 0.6	0.00	0.00	66.67	33.33	100.00	200.00
	2,4 D 0.8	33.33	66.67	66.67	0.00	100.00	266.67
	2,4 D 0.1	66.67	66.67	100.00	100.00	100.00	433.33
<i>Endosperm</i>	2,4 D 0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	2,4 D 0.2	66.67	33.33	0.00	0.00	0.00	100.00
	2,4 D 0.4	66.67	100.00	66.67	100.00	33.33	366.67
	2,4 D 0.6	0.00	33.33	0.00	66.67	0.00	100.00
	2,4 D 0.8	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	2,4 D 0.1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Total	233.33	300.00	333.33	333.33	433.33	1633.33	
Rata-rata	19.44	25.00	27.78	27.78	36.11		27.22

**E.2 Transformasi Data Pengamatan Persentase Eksplan yang Membentuk Kalus**

Perlakuan	Ulangan					Total	Rata-rata	
	1	2	3	4	5			
Daun	2,4 D 0	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	3.54	0.71
	2,4 D 0.2	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	3.54	0.71
	2,4 D 0.4	0.71	0.71	5.82	5.82	10.02	23.07	4.61
	2,4 D 0.6	0.71	0.71	8.20	5.82	10.02	25.45	5.09
	2,4 D 0.8	5.82	8.20	8.20	0.71	10.02	32.94	6.59
	2,4 D 0.1	8.20	8.20	10.02	10.02	10.02	46.47	9.29
<i>Endosperm</i>	2,4 D 0	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	3.54	0.71
	2,4 D 0.2	8.20	5.82	0.71	0.71	0.71	16.13	3.23
	2,4 D 0.4	8.20	10.02	8.20	10.02	5.82	42.26	8.45
	2,4 D 0.6	0.71	5.82	0.71	8.20	0.71	16.13	3.23
	2,4 D 0.8	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	3.54	0.71
	2,4 D 0.1	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	3.54	0.71
Total		36.06	43.00	45.38	44.83	50.87	220.13	
Rata-rata		3.01	3.58	3.78	3.74	4.24		3.67

**FK 807.6338**

**E.3 Analisis Ragam (ANOVA)**

SUMBER KERAGAMAN	db	JK	KT	F-Hitung		F-Tabel 5 %	F-Tabel 1 %
Perlakuan	11	550.97	50.0880	7.89	**	1.99	2.64
Eksplan	1	41.45	41.4493	6.53	*	4.04	7.19
Konsentrasi	5	218.85	43.7690	6.89	**	2.41	3.43
EksplanxKonsentrasi	5	290.67	58.1348	9.16	**	2.41	3.43
Error	48	304.73	6.3486				
<b>Total</b>	<b>59</b>	<b>855.70</b>					

**CV**

**68.68**

Keterangan:

tn = tidak berpengaruh nyata (Nilai F-Hitung  $\leq$  nilai F-Tabel pada taraf 5%)

\* = berpengaruh nyata (nilai F-Hitung < nilai F-Tabel pada taraf 1% dan nilai F-Hitung > F-Tabel pada taraf 5%)

\*\* = berpengaruh sangat nyata (nilai F-Hitung > nilai F-Tabel pada taraf 1%)

**F. Berat Kalus (Pertambahan Nilai Biomassa)**

**F.1 Data Pengamatan Berat Kalus (Pertambahan Nilai Biomassa)**

Perlakuan	Ulangan					Total	Rata-rata	
	1	2	3	4	5			
Daun	2,4 D 0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
	2,4 D 0.2	30.00	30.00	30.00	40.00	60.00	190.00	38.00
	2,4 D 0.4	10.00	40.00	130.00	80.00	70.00	330.00	66.00
	2,4 D 0.6	10.00	10.00	70.00	30.00	0.00	120.00	24.00
	2,4 D 0.8	40.00	30.00	40.00	20.00	60.00	190.00	38.00
	2,4 D 0.1	60.00	40.00	10.00	100.00	80.00	290.00	58.00
<i>Endosperm</i>	2,4 D 0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	2,4 D 0.2	10.00	20.00	0.00	0.00	0.00	30.00	6.00
	2,4 D 0.4	10.00	0.00	10.00	10.00	0.00	30.00	6.00
	2,4 D 0.6	10.00	10.00	70.00	30.00	40.00	160.00	32.00
	2,4 D 0.8	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	2,4 D 0.1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Total	180.00	180.00	360.00	310.00	310.00	1340.00		
Rata-rata	15.00	15.00	30.00	25.83	25.83		22.33	

**F.2 Transformasi Data Pengamatan Berat Kalus (Pertambahan Nilai Biomassa)**

Perlakuan	Ulangan					Total	Rata-rata	
	1	2	3	4	5			
Daun	2,4 D 0	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	3.54	0.71
	2,4 D 0.2	5.52	5.52	5.52	6.36	7.78	30.71	6.14
	2,4 D 0.4	3.24	6.36	11.42	8.97	8.40	38.40	7.68
	2,4 D 0.6	3.24	3.24	8.40	5.52	0.71	21.11	4.22
	2,4 D 0.8	6.36	5.52	6.36	4.53	7.78	30.56	6.11
	2,4 D 0.1	7.78	6.36	3.24	10.02	8.97	36.38	7.28
<i>Endosperm</i>	2,4 D 0	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	3.54	0.71
	2,4 D 0.2	3.24	4.53	0.71	0.71	0.71	9.89	1.98
	2,4 D 0.4	3.24	0.71	3.24	3.24	0.71	11.14	2.23
	2,4 D 0.6	3.24	3.24	8.40	5.52	6.36	26.76	5.35
	2,4 D 0.8	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	3.54	0.71
	2,4 D 0.1	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	3.54	0.71
Total		38.70	38.32	50.12	47.71	44.24	219.08	
Rata-rata		3.22	3.19	4.18	3.98	3.69		3.65

**FK 799,9378**

**F.3 Analisis Ragam (ANOVA)**

SUMBER KERAGAMAN	db	JK	KT	F-Hitung		F-Tabel 5 %	F-Tabel 1 %
Perlakuan	11	0.01	0.0013	12.40	**	1.99	2.64
Eksplan	1	0.01	0.0063	56.42	**	4.04	7.19
Konsentrasi	5	0.00	0.0007	7.76	**	2.41	3.43
EksplanxKonsentrasi	5	0.00	0.0010	8.24	**	2.41	3.43
Error	48	0.01	0.0002				
<b>Total</b>	<b>59</b>	<b>570.06</b>					

CV 48.15

**Keterangan:**

tn = tidak berpengaruh nyata (Nilai F-Hitung  $\leq$  nilai F-Tabel pada taraf 5%)

\* = berpengaruh nyata (nilai F-Hitung < nilai F-Tabel pada taraf 1% dan nilai F-Hitung > F-Tabel pada taraf 5%)

\*\* = berpengaruh sangat nyata (nilai F-Hitung > nilai F-Tabel pada taraf 1%)

**G. Warna Kalus**

**G.1 Data Pengamatan Warna Kalus**

Perlakuan	Ulangan					Total	Rata-rata
	1	2	3	4	5		
Daun	2,4 D 0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	2,4 D 0.2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	2,4 D 0.4	0.00	0.00	4.00	4.00	4.00	12.00
	2,4 D 0.6	0.00	0.00	4.00	4.00	4.00	12.00
	2,4 D 0.8	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	20.00
	2,4 D 0.1	4.00	5.00	4.00	4.00	4.00	21.00
<i>Endosperm</i>	2,4 D 0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	2,4 D 0.2	0.00	4.00	0.00	0.00	0.00	4.00
	2,4 D 0.4	0.00	0.00	0.00	0.00	4.00	4.00
	2,4 D 0.6	0.00	4.00	0.00	0.00	0.00	4.00
	2,4 D 0.8	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	2,4 D 0.1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Total	8.00	17.00	16.00	16.00	20.00	77.00	
Rata-rata	0.67	1.42	1.33	1.33	1.67		1.28

**G.2 Transformasi Data Pengamatan Warna Kalus**

Perlakuan	Ulangan					Total	Rata-rata	
	1	2	3	4	5			
Daun	2,4 D 0	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	3.54	0.71
	2,4 D 0.2	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	3.54	0.71
	2,4 D 0.4	0.71	0.71	2.12	2.12	2.12	7.78	1.56
	2,4 D 0.6	0.71	0.71	2.12	2.12	2.12	7.78	1.56
	2,4 D 0.8	2.12	2.12	2.12	2.12	2.12	10.61	2.12
	2,4 D 0.1	2.12	2.35	2.12	2.12	2.12	10.83	2.17
<i>Endosperm</i>	2,4 D 0	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	3.54	0.71
	2,4 D 0.2	0.71	2.12	0.71	0.71	0.71	4.95	0.99
	2,4 D 0.4	0.71	0.71	0.71	0.71	2.12	4.95	0.99
	2,4 D 0.6	0.71	2.12	0.71	0.71	0.71	4.95	0.99
	2,4 D 0.8	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	3.54	0.71
	2,4 D 0.1	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	3.54	0.71
Total	11.31	14.37	14.14	14.14	15.56	69.52		
Rata-rata	0.94	1.20	1.18	1.18	1.30		1.16	

**FK 80.55132**

**G.3 Analisis Ragam (ANOVA)**

SUMBER KERAGAMAN	db	JK	KT	F-Hitung		F-Tabel 5 %	F-Tabel 1 %
Perlakuan	11	16.81	1.5281	7.61	**	1.99	2.64
Eksplan	1	5.77	5.7714	28.74	**	4.04	7.19
Konsentrasi	5	4.69	0.9374	4.67	**	2.41	3.43
EksplanxKonsentrasi	5	6.35	1.2701	6.32	**	2.41	3.43
Error	48	9.64	0.2008				
<b>Total</b>	<b>59</b>	<b>26.45</b>					

**CV**

**38.68**

Keterangan:

tn = tidak berpengaruh nyata (Nilai F-Hitung  $\leq$  nilai F-Tabel pada taraf 5%)

\* = berpengaruh nyata (nilai F-Hitung < nilai F-Tabel pada taraf 1% dan nilai F-Hitung > F-Tabel pada taraf 5%)

\*\* = berpengaruh sangat nyata (nilai F-Hitung > nilai F-Tabel pada taraf 1%)

**H. Tekstur Kalus**

**H.1 Data Pengamatan Tekstur Kalus**

Perlakuan	Ulangan					Total	Rata-rata
	1	2	3	4	5		
Daun	2,4 D 0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	2,4 D 0.2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	2,4 D 0.4	0.00	0.00	4.00	4.00	4.00	12.00
	2,4 D 0.6	0.00	0.00	4.00	4.00	4.00	12.00
	2,4 D 0.8	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	20.00
	2,4 D 0.1	4.00	2.00	4.00	4.00	4.00	18.00
<i>Endosperm</i>	2,4 D 0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	2,4 D 0.2	0.00	4.00	0.00	0.00	0.00	4.00
	2,4 D 0.4	0.00	0.00	0.00	0.00	4.00	4.00
	2,4 D 0.6	0.00	4.00	0.00	0.00	0.00	4.00
	2,4 D 0.8	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	2,4 D 0.1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Total	8.00	14.00	16.00	16.00	20.00	74.00	
Rata-rata	0.67	1.17	1.33	1.33	1.67		1.23

**H.2 Transformasi Data Pengamatan Tekstur Kalus**

Perlakuan	Ulangan					Total	Rata-rata	
	1	2	3	4	5			
Daun	2,4 D 0	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	3.54	0.71
	2,4 D 0.2	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	3.54	0.71
	2,4 D 0.4	0.71	0.71	2.12	2.12	2.12	7.78	1.56
	2,4 D 0.6	0.71	0.71	2.12	2.12	2.12	7.78	1.56
	2,4 D 0.8	2.12	2.12	2.12	2.12	2.12	10.61	2.12
	2,4 D 0.1	2.12	1.58	2.12	2.12	2.12	10.07	2.01
<i>Endosperm</i>	2,4 D 0	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	3.54	0.71
	2,4 D 0.2	0.71	2.12	0.71	0.71	0.71	4.95	0.99
	2,4 D 0.4	0.71	0.71	0.71	0.71	2.12	4.95	0.99
	2,4 D 0.6	0.71	2.12	0.71	0.71	0.71	4.95	0.99
	2,4 D 0.8	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	3.54	0.71
	2,4 D 0.1	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	3.54	0.71
Total		11.31	13.60	14.14	14.14	15.56	68.76	
Rata-rata		0.94	1.13	1.18	1.18	1.30		1.15

**FK 78.79044**

**H.3 Analisis Ragam (ANOVA)**

SUMBER KERAGAMAN	db	JK	KT	F-Hitung		F-Tabel 5 %	F-Tabel 1 %
Perlakuan	11	15.38	1.3978	6.82	**	1.99	2.64
Eksplan	1	5.31	5.3072	25.91	**	4.04	7.19
Konsentrasi	5	4.31	0.8622	4.21	**	2.41	3.43
EksplanxKonsentrasi	5	5.76	1.1516	5.62	**	2.41	3.43
Error	48	9.83	0.2049				
<b>Total</b>	<b>59</b>	<b>25.21</b>					

**CV**

**39.50**

Keterangan:

tn = tidak berpengaruh nyata (Nilai F-Hitung  $\leq$  nilai F-Tabel pada taraf 5%)

\* = berpengaruh nyata (nilai F-Hitung < nilai F-Tabel pada taraf 1% dan nilai F-Hitung > F-Tabel pada taraf 5%)

\*\* = berpengaruh sangat nyata (nilai F-Hitung > nilai F-Tabel pada taraf 1%)