



**INDUKSI KALUS TANAMAN GAHARU (*Gyrinops verstegii*)  
MENGUNAKAN 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetid acid)**

**SKRIPSI**

**Oleh**

**Sarah Hanifah Rosjadi  
NIM 121510501067**

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



**INDUKSI KALUS TANAMAN GAHARU (*Gyrinops verstegii*)  
MENGUNAKAN 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetid acid)**

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat  
untuk menyelesaikan Program Studi Agroteknologi (S1)  
dan memperoleh gelar Sarjana Pertanian

Oleh

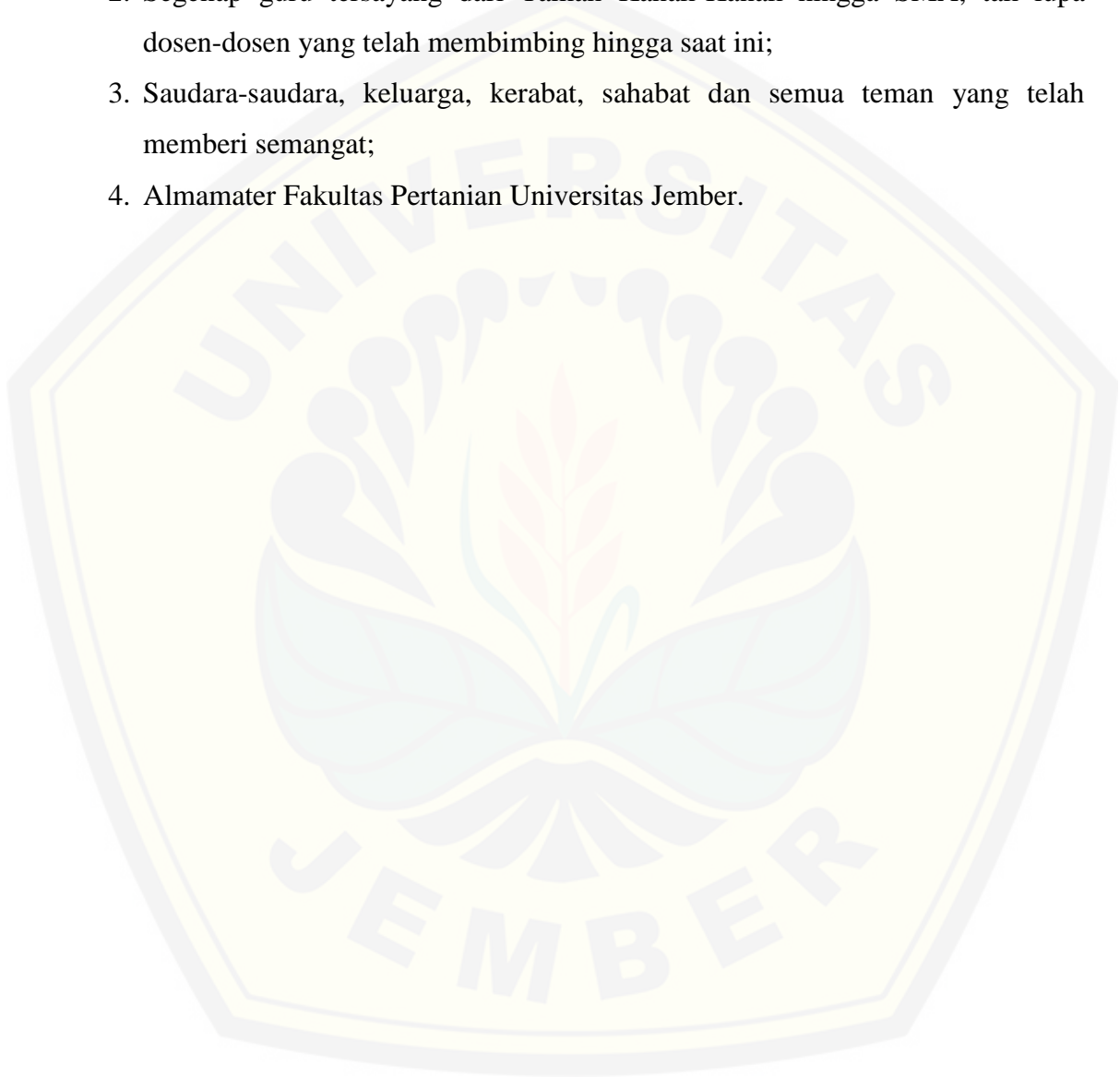
**Sarah Hanifah Rosjadi  
NIM 121510501067**

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

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ibu Enny Sri Wahyuni dan Bapak Imron Rosjadi tercinta;
2. Segenap guru tersayang dari Taman Kanak-Kanak hingga SMA, tak lupa dosen-dosen yang telah membimbing hingga saat ini;
3. Saudara-saudara, keluarga, kerabat, sahabat dan semua teman yang telah memberi semangat;
4. Almamater Fakultas Pertanian Universitas Jember.



**MOTTO**

“..... Cukuplah Allah menjadi Penolong kami dan Allah adalah sebaik-baik Pelindung.” (QS Ali Imron: 173)



**PERNYATAAN**

Saya yang bertandatangan dibawah ini :

Nama : Sarah Hanifah Rosjadi

NIM : 121510501067

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul **“Induksi Kalus Tanaman Gaharu (*Gyrinops verstegii*) Menggunakan 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetid acid)”** adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus di junjung tinggi.

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

Jember, Maret 2017

Yang menyatakan,

Sarah Hanifah Rosjadi  
NIM 121510501067

**SKRIPSI**

**INDUKSI KALUS TANAMAN GAHARU (*Gyrinops verstegii*)  
MENGUNAKAN 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetid acid)**

Oleh

**Sarah Hanifah Rosjadi  
NIM 121510501067**

**Pembimbing:**

Pembimbing Utama : Ir. Didik Pudji Restanto, MS., Ph.D.  
NIP. 196504261994031001

Pembimbing Anggota : Ir. Kacung Hariyono, MS., Ph.D.  
NIP. 196408141995121001

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “**Induksi Kalus Tanaman Gaharu (*Gyrinops verstegii*) Menggunakan 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetid acid)**” telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal : Maret 2017

Tempat : Fakultas Pertanian Universitas Jember

**Dosen Pembimbing Utama,**

**Dosen Pembimbing Anggota,**

**Ir. Didik Pudji Restanto, MS., Ph.D.**  
NIP. 196504261994031001

**Ir. Kacung Hariyono, MS., Ph.D.**  
NIP. 196408141995121001

**Dosen Penguji I,**

**Dosen Penguji II,**

**Dr. Ir. Parawita Dewanti, MP.**  
NIP. 196504251990022002

**Dr. Ir. Miswar, M.Si.**  
NIP. 196410191990021002

**Mengesahkan**

**Dekan,**

**Ir. Sigit Soeparjono, MS., Ph.D.**  
NIP. 196005061987021001

## RINGKASAN

**Induksi Kalus Tanaman Gaharu (*Gyrinops verstegii*) Menggunakan 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetid acid).** Sarah Hanifah Rosjadi, 121510501067; 2017; 35 halaman; Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember.

Tanaman Gaharu (*Gyrinops verstegii*) merupakan tanaman Hasil Hutan Bukan Kayu (HHBK) dimana tanaman ini menghasilkan resin, terbentuk karena adanya infeksi pada pohon baik secara alami ataupun buatan. Resin ini memiliki nilai jual cukup tinggi, banyak dimanfaatkan untuk parfum, kosmetika, bahan baku obat herbal, dan produk lainnya. Eksploitasi secara berlebihan, menyebabkan populasi gaharu semakin lama semakin menurun, hingga komisi CITES (*Convention on International Trade on Endangered Species of Wild Flora and Fauna*) menetapkan *Gyrinops* spp. masuk dalam Appendik II atau langka. Upaya budidaya yang tepat merupakan salah satu langkah untuk mengatasi hal ini. Perbanyakan menggunakan biji, stek maupun cangkok dirasa masih memiliki kendala menjadikan perbanyakan dengan kultur jaringan sebagai alternatif terhadap usaha perbanyakan tanaman gaharu.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi 2,4-D terhadap induksi kalus embrionik (embriogenesis somatik) dari eksplan daun tanaman gaharu. Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret-Desember 2016 di Laboratorium Kultur Jaringan, Fakultas Pertanian Universitas Jember. Perlakuan yang diberikan terhadap eksplan daun tersebut diantaranya kombinasi dari 2,4-D dengan konsentrasi 0 ppm (kontrol); 1 ppm; 2 ppm; 3 ppm; 4 ppm. Pelaksanaan penelitian dimulai dari pembuatan media, sterilisasi peralatan, sterilisasi eksplan yang dilanjutkan induksi kalus. Variabel pengamatan dari penelitian ini diantaranya adalah kedinian munculnya kalus, berat basah kalus, warna kalus dan tekstur kalus.

Hasil analisis ragam menunjukkan variabel pengamatan kedinian munculnya kalus berbeda tidak nyata. Hasil yang sama juga ditunjukkan pada berat basah kalus pada hari ke-28. Sedangkan untuk berat kalus pada hari ke-56 menunjukkan hasil berbeda sangat nyata. Hasil penelitian didapatkan



pertumbuhan kalus dari eksplan daun tanaman gaharu cenderung lebih baik pada konsentrasi 2,4-D 2 ppm. Pada perlakuan tersebut, kedinihan munculnya kalus sekitar 14 hari setelah tanam. Perlakuan 2,4-D 2 ppm memberikan hasil rata-rata berat basah kalus cenderung lebih tinggi pada hari ke 28 dan 56 dengan nilai berturut-turut 0,47 gram dan 1,48 gram. Kalus yang dihasilkan dari perlakuan 2,4-D 2 ppm memiliki warna kuning 5 Y 8/8 dengan tekstur kalus yang remah.

***Kata kunci*** : *Tanaman Gaharu (Gyrinops spp.), gaharu, kalus, 2,4-D*



## SUMMARY

**Callus Induction Gaharu (*Gyrinops verstegii*) Use 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetid acid).** Sarah Hanifah Rosjadi, 121510501067; 2017; 35 pages; Agrotechnology Departement, Faculty of Agriculture, Jember University.

Gaharu (*Gyrinops verstegii*) is a plant non timber forest products where these plants produce resins, formed due to an infection in the tree either naturally or man-made. This resin has a high value, useful for perfumes, cosmetics, herbal medicine, raw materials and other products. Exploitation in excess, causing population gaharu decrease, until commission CITES (Convention on International Trade on Endangered Species of Wild Flora and Fauna) determined *Gyrinops* spp. included APPENDIK II or rare. Right cultivation is one of the steps to cope this problem. Cultivation use seeds, cutting and grafting still have obstacles, so propagation by tissue culture as an alternative to effort propagation gaharu.

This research is aimed to determine the influence of concentration 2,4-D in callus embryonic (somatic embryogenesis) induction from leaves explant of gaharu plant. This research carried out on Maret-Desember 2016 in Tissue Culture Laboratory, Agricultur Faculty, Jember University. Treatment was given to leaves eksplan is combination of 2,4-D by concentration 0 ppm (control); 1 ppm; 2 ppm; 3 ppm; 4 ppm. The implementation of the research is making media, sterilization equipment, sterilization explant and then callus induction. Variable observation from the study of them are first time the appearance of callus, fresh weight of callus, color callus and texture callus.

The results of the analysis show variable observation first time the appearance of callus is not significant difference. Same result is also shown on fresh weight of callus on the day of 28. While for the fresh weight of callus on the day of 56 show significant difference. The results of the study was obtained leaves explant of gaharu indicated best callus growth at concentrations 2,4-D 2 ppm. The treatment shown, first time the appearance of callus about 14 days after planting. Treatment 2,4-D 2 ppm results from the average fresh weight of callus tends to be

higher on the day 28 and 56 with value 0.47 gram and 1.48 grams. Callus resulting from treatment 2,4-D 2 ppm having a yellow color 5Y 8/8 with texture callus who friable.

**Key word:** *Gaharu* (*Gyrinops spp.*), *gaharu*, *callus*, 2,4-D



## PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT., atas segala rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**INDUKSI KALUS TANAMAN GAHARU (*Gyrinops verstegii*) MENGGUNAKAN 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetid acid)**”. Karya tulis ilmiah ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan Pendidikan Strata Satu (S1) pada Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Ir. Didik Pudji Restanto, MS., Ph.D., selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah membimbing, memotivasi dan menyisakann waktu luangnya.
2. Ir. Kacung Hariyono, MS., Ph.D., selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah memberikan banyak pemikiran yang logis untuk kemajuan penulis.
3. Dr. Ir. Parawita Dewanti, MP., dan Dr.Ir. Miswar, M.Si. selaku Dosen Penguji yang telah memberikan kritik dan saran yang membangun dalam penelitian ini.
4. Ir. Sigit Prastowo, MP., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing, memberi nasehat serta motivasi hingga akhir semester.
5. Ir. Sigit Soeparjono, M.S., Ph.D., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Jember.
6. Kedua orang tua saya Imron Rosjadi dan Enny Sri Wahyuni. Terimakasih pula pada kedua adik saya Safira Cahya Rosjadi dan Sahda Salsabila Rosjadi.
7. Keluarga besar Orchid Group, B12 AGT, AGT 2012, CR dan semua pihak yang telah membantu baik secara langsung maupun tidak langsung.

Demikian penyusunan skripsi ini sebagai laporan pertanggungjawaban penelitian dengan harapan hasil penelitian yang telah diperoleh dapat bermanfaat bagi pengembangan pengetahuan dan sebagai informasi yang dapat digunakan sebagai acuan bagi para peneliti atau pihak yang terkait dalam mengembangkan penelitian.

Jember, Maret 2017

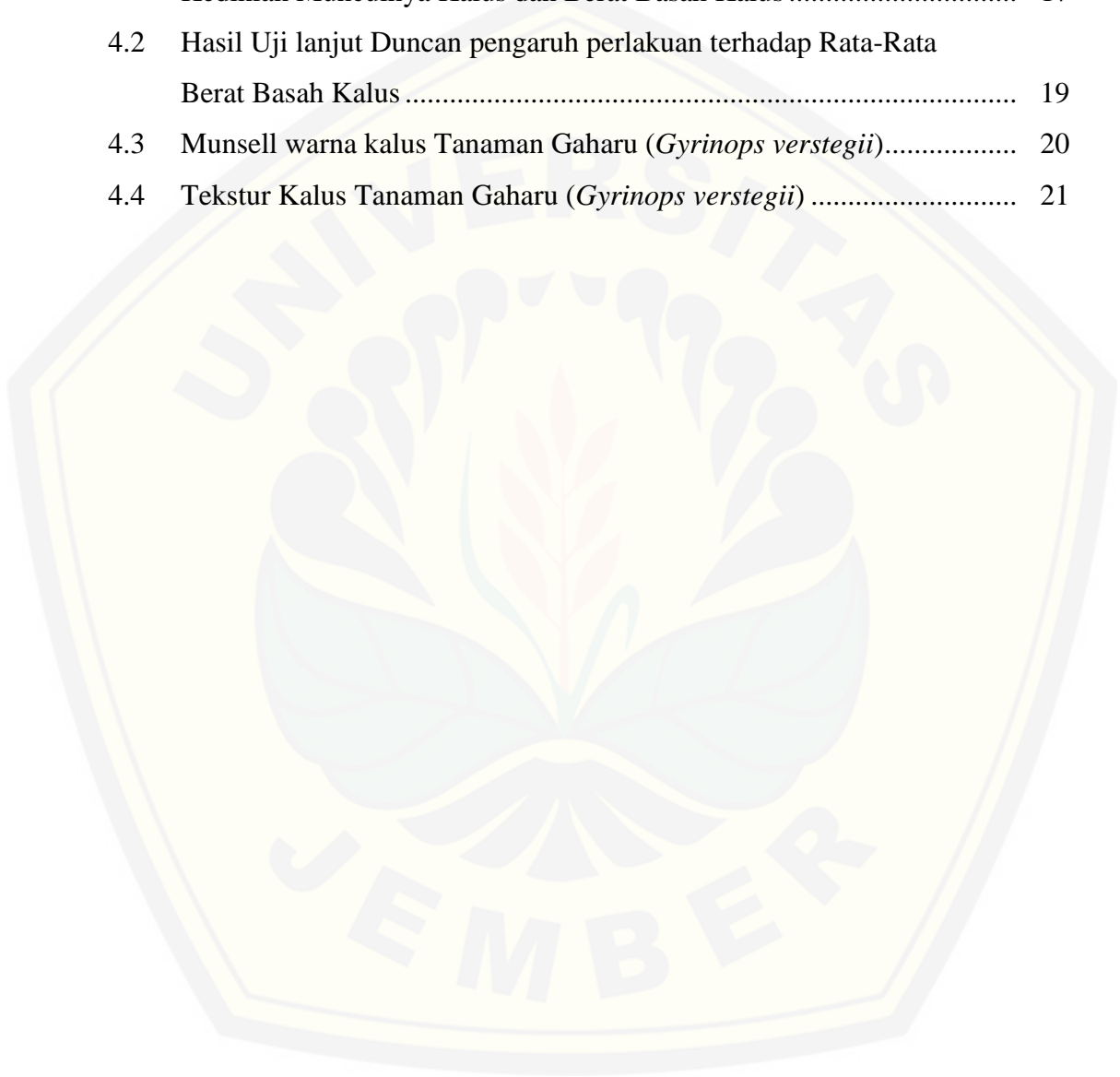
**DAFTAR ISI**

|  | Halaman |
|--|---------|
| <b>HALAMAN JUDUL</b> .....                             | ii      |
| <b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....                       | iii     |
| <b>HALAMAN MOTTO</b> .....                             | iv      |
| <b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....                        | v       |
| <b>HALAMAN BIMBINGAN</b> .....                         | vi      |
| <b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....                        | vii     |
| <b>RINGKASAN</b> .....                                 | viii    |
| <b>SUMMARY</b> .....                                   | x       |
| <b>PRAKATA</b> .....                                   | xii     |
| <b>DAFTAR ISI</b> .....                                | xiii    |
| <b>DAFTAR TABEL</b> .....                              | xv      |
| <b>DAFTAR GAMBAR</b> .....                             | xvi     |
| <b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....                           | xvii    |
| <b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....                        | 1       |
| 1.1 Latar Belakang.....                                | 1       |
| 1.2 Rumusan Masalah.....                               | 3       |
| 1.3 Tujuan dan Manfaat .....                           | 4       |
| <b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....                   | 5       |
| 2.1 Botani Tanaman Gaharu ( <i>Gyrinops</i> spp.)..... | 5       |
| 2.2 Karakteristik Tanaman Gaharu.....                  | 6       |
| 2.3 Teknik In vitro (Kultur Jaringan) Gaharu.....      | 7       |
| 2.4 Media Murashige dan Skoog (MS) .....               | 9       |
| 2.5 Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D.....                     | 10      |
| 2.6 Hipotesis .....                                    | 11      |
| <b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b> .....                  | 12      |
| 3.1 Waktu dan Tempat.....                              | 12      |
| 3.2 Alat dan Bahan .....                               | 12      |
| 3.3 Metode Penelitian .....                            | 12      |
| 3.4 Pelaksanaan Penelitian.....                        | 12      |

|   |           |
|---|-----------|
| 3.4.1 Pembuatan Media .....             | 12        |
| 3.4.2 Sterilisasi peralatan .....       | 13        |
| 3.4.3 Sterilisasi Eksplan .....         | 13        |
| 3.4.4 Induksi kalus .....               | 16        |
| 3.5 Variabel Pengamatan .....           | 16        |
| <b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b> | <b>17</b> |
| 4.1 Hasil .....                         | 17        |
| 4.1.1 Analisis Ragam .....              | 17        |
| 4.1.2 Kedinian Munculnya Kalus.....     | 17        |
| 4.1.3 Berat Basah Kalus .....           | 18        |
| 4.1.4 Warna Kalus .....                 | 19        |
| 4.1.5 Tekstur Kalus .....               | 20        |
| 4.2 Pembahasan .....                    | 21        |
| <b>BAB 5. PENUTUP .....</b>             | <b>27</b> |
| 5.1 Kesimpulan .....                    | 27        |
| 5.2 Saran .....                         | 27        |
| <b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>             | <b>28</b> |
| <b>LAMPIRAN.....</b>                    | <b>32</b> |

**DAFTAR TABEL**

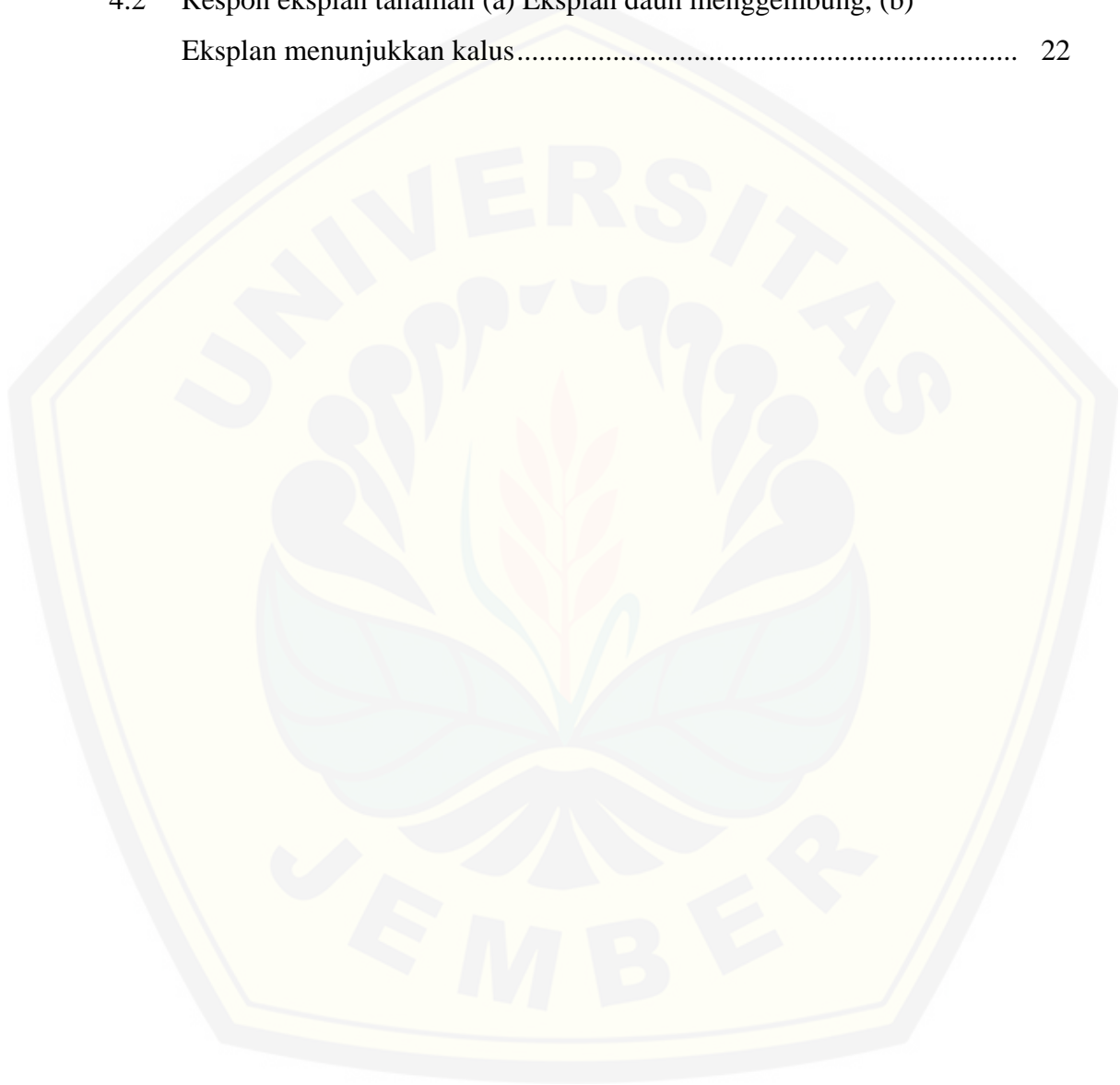
| <b>Tabel</b> | <b>Judul</b>   | <b>Halaman</b> |
|--------------|--|----------------|
| 4.1          | Rangkuman Nilai F-hitung dalam Analisis Sidik Ragam Variabel<br>Kedinian Munculnya Kalus dan Berat Basah Kalus ..... | 17             |
| 4.2          | Hasil Uji lanjut Duncan pengaruh perlakuan terhadap Rata-Rata<br>Berat Basah Kalus .....                             | 19             |
| 4.3          | Munsell warna kalus Tanaman Gaharu ( <i>Gyrinops verstegii</i> ).....  | 20             |
| 4.4          | Tekstur Kalus Tanaman Gaharu ( <i>Gyrinops verstegii</i> ) .....   | 21             |





**DAFTAR GAMBAR**

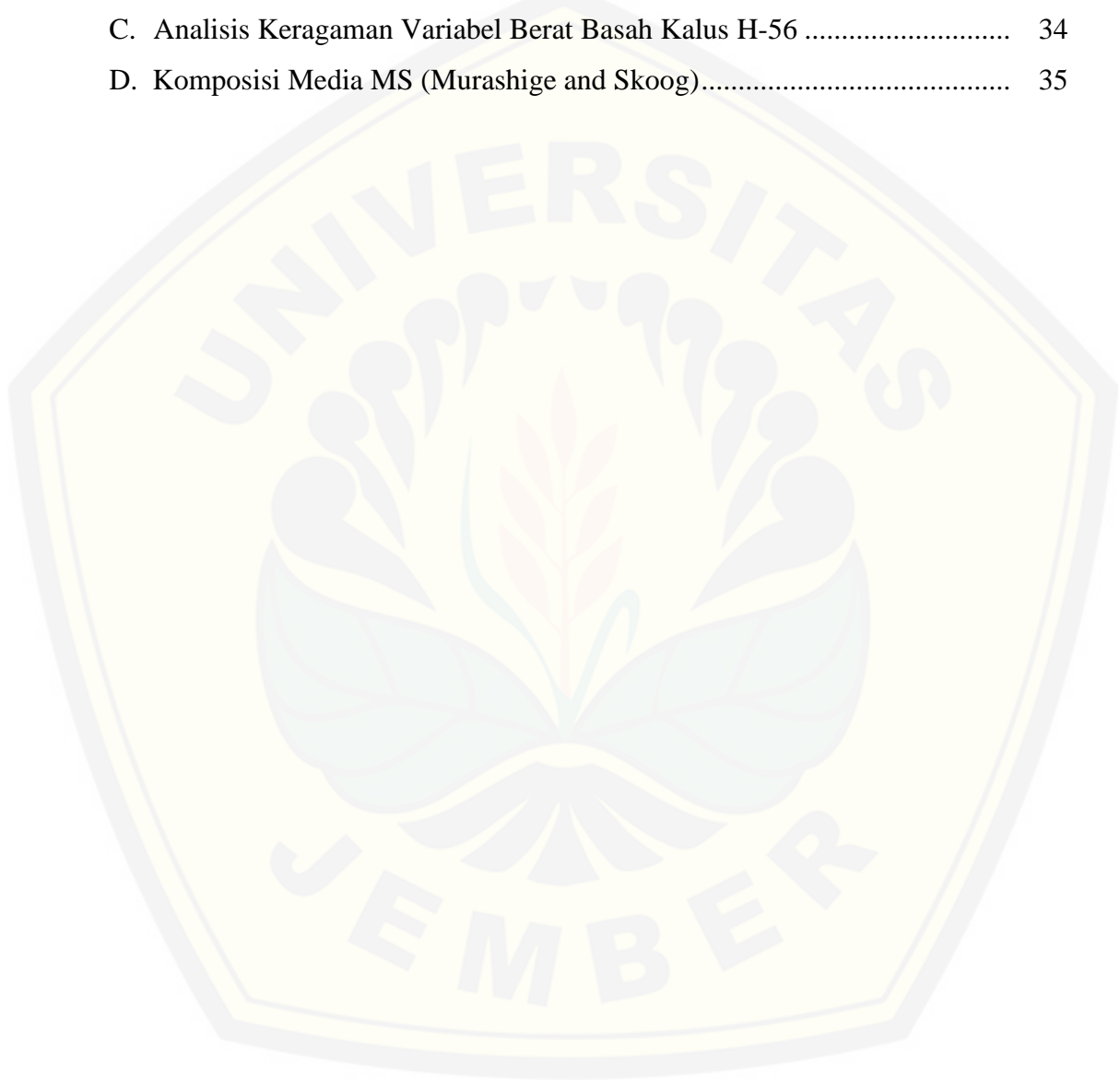
| <b>Gambar</b> | <b>Judul</b>   | <b>Halaman</b> |
|---------------|--|----------------|
| 4.1           | Rata-rata kedininan munculnya kalus (HST).....   | 18             |
| 4.2           | Respon eksplan tanaman (a) Eksplan daun menggembung, (b)<br>Eksplan menunjukkan kalus..... | 22             |





**DAFTAR LAMPIRAN**

|   | Halaman |
|---|---------|
| A. Analisis Keragaman Variabel Kedirian munculnya Kalus (HST) ..... | 32      |
| B. Analisis Keragaman Variabel Berat Basah Kalus H-28 .....         | 33      |
| C. Analisis Keragaman Variabel Berat Basah Kalus H-56 .....         | 34      |
| D. Komposisi Media MS (Murashige and Skoog).....                    | 35      |



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Tanaman Gaharu telah dikenal masyarakat Indonesia sejak tahun 1200 dan penanamannya telah menyebar ke beberapa daerah di Indonesia seperti Sumatra, Kalimantan, Sulawesi, Nusa Tenggara dan Papua (Sumarna, 2008). Tanaman gaharu merupakan tanaman Hasil Hutan Bukan Kayu (HHBK) yang memiliki banyak manfaat dan kegunaan sehingga berpotensi tinggi untuk ditanam. Gaharu dapat mengeluarkan resin berupa minyak yang baunya sangat khas. Resin inilah yang memiliki nilai jual cukup tinggi dan banyak dimanfaatkan untuk parfum, kosmetika, dan bahan baku obat herbal. Selain gaharu, kayu dan daun dari tanaman penghasil gaharu dapat dimanfaatkan untuk kayu bakar, kerajinan, teh, dan produk lainnya. Kegunaan gaharu yang cukup banyak ini sudah seharusnya menjadikan Indonesia lebih giat dalam budidaya gaharu sehingga dapat menambah devisa negara serta pelestarian plasma nutfah gaharu.

Selama ini gaharu dieksploitasi secara berlebihan dan tidak bijaksana sehingga populasinya semakin menurun. Sejak akhir tahun 2000 sampai akhir tahun 2002, angka ekspor terlihat mengalami penurunan (Iskandar *and* Suhendra, 2012). Permintaan yang tinggi ini tidak diimbangi dengan produksi tanaman yang tinggi pula, sehingga menyebabkan tanaman ini hampir punah. Akibat penurunan tersebut, sejak tahun 2001, tanaman penghasil gaharu termasuk dalam CITES (*Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora*) dimana didalamnya termasuk kategori APENDIX II atau langka (Millang *et al.*, 2011). Setelah masuk ke dalam kategori tersebut, kegiatan ekspor gaharu diatur oleh pemerintah dengan menurunkan kuotanya. Pada tahun 2000 sebelum dikategorikan APENDIX II CITES kuota ekspor mencapai 200.000 kg, sedangkan setelah masuk kategori APENDIX II CITES kuota diturunkan menjadi 125.000 (Semiadi *et al.*, 2010).

Perlu adanya peningkatan budidaya tanaman gaharu untuk mengatasi kelangkaan terutama dalam proses penyediaan bibit tanaman gaharu. Akan tetapi, menurut Zubaidi dan Farida (2008), penyediaan bibit menjadi kendala dalam

budidaya tanaman gaharu. Budidaya tanaman gaharu dapat dilakukan secara generatif yaitu dengan menggunakan biji. Kendala yang dihadapi ketika dilakukan perbanyakan dengan menggunakan biji adalah sifat biji yang rekalsitran atau mudah berkecambah (Yelnitis, 2014).

Menurut Saikia *et al.* (2013), perbanyakan melalui biji memiliki tingkat kematian yang cukup tinggi dan rata-rata kelangsungan hidupnya rendah. Serangan hama dan penyakit sering menghambat pertumbuhan semaian dan anakan atau pohon muda pada fase awal pertumbuhan tanaman. Biji tanaman gaharu tidak tahan lembab, berat benih cepat menurun disebabkan oleh viabilitas yang rendah sehingga memberikan efek kurang baik terhadap perkecambahan.

Penelitian Ningsih *et al.* (2015), menunjukkan daya kecambah benih *Aquilaria microcarpa* paling tinggi adalah 64%. Yelnitis (2014), melakukan penelitian dengan biji tanaman *G. versteegi* dimana terdapat 15 macam family dan hanya 4 famili yang dapat berkecambah. Biji yang berkecambah hanya menunjukkan daya kecambah sekitar 75%. Penelitian lainnya dilakukan oleh Subiakto *et al.* (2010) dalam Siran *et al.*, (2010) bahwa daya berkecambah *A. microcarpa* dan *A. malacensis* adalah 69% pada periode simpan 2 minggu. Hasil penelitian tersebut belum dapat memenuhi kebutuhan dalam pengadaan bahan tanam tanaman gaharu karena kriteria sebuah benih gaharu untuk perbanyakan adalah memiliki mutu benih dengan daya kecambah atau viabilitas diatas 80% (Sumarna, 2008).

Adapun budidaya secara vegetatif yaitu dengan stek, dan cangkok, akan tetapi metode ini kurang berhasil. Hal ini karena kemampuan berakar yang cepat hilang dengan semakin bertambahnya usia tanaman dan keterbatasan bahan tanam yang dapat diperoleh di waktu tertentu. Metode ini juga menghasilkan bibit dengan skala terbatas, padahal kebutuhan komersil cukup tinggi. Sehingga metode perbanyakan ini kurang efektif dan diperlukan alternatif lain (Sharma and Vashistha, 2015).

Teknik budidaya yang dapat menjadi alternatif adalah dengan kultur jaringan. Teknik kultur jaringan merupakan suatu metode penanaman protoplas, sel, jaringan dan organ pada media buatan dalam kondisi aseptik sehingga dapat

beregenerasi menjadi tanaman lengkap yang sifatnya sama seperti induknya. Perbanyakan dalam kultur jaringan dapat dilakukan melalui jalur embriogenesis somatik. Kelebihan dari teknik ini diantaranya embrio yang dihasilkan bersifat bipolar, menyerupai embrio zigotik, penanaman tidak bergantung pada waktu/musim, dapat menghasilkan tanaman dalam jumlah banyak dan memiliki sifat sama seperti induknya.

Perbanyakan dengan teknik kultur jaringan tentunya didukung dengan zat pengatur tumbuh untuk merangsang pertumbuhan eksplan. Jenis zat pengatur tumbuh yang digunakan pada penelitian ini adalah 2,4-D dimana hormon tersebut banyak digunakan untuk menunjang pertumbuhan kalus. Penelitian Saikia *et al.* (2012), menunjukkan bahwa induksi kalus tanaman gaharu pada perlakuan 2,4-D 2 ppm + 0,1 ppm Kn menghasilkan berat basah cukup tinggi yaitu 7,231 gram. Hasil penelitian Debnath (2013), menyatakan bahwa induksi kalus dengan eksplan daun tanaman gaharu lebih efisien menggunakan 2,4-D 4 ppm. Teknik ini diharapkan dapat memberikan alternatif dalam upaya konservasi dan perkembangan gaharu dimasa yang akan datang. Berdasarkan uraian tersebut maka perlu dilaksanakan penelitian tentang tanaman gaharu dengan penambahan hormon 2,4-D yang tepat sehingga dapat menginduksi kalus dari eksplan tanaman gaharu.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Tanaman gaharu memiliki banyak manfaat dan harga jual yang cukup tinggi, akan tetapi akibat eksploitasi secara berlebih menjadikan tanaman ini langka, sehingga diperlukan teknik perbanyakan yang tepat. Perbanyakan yang dilaksanakan umumnya masih menggunakan biji, dimana tanaman yang dihasilkan memiliki kekurangan akibat biji yang rekalsitran dan viabilitasnya rendah. Teknik kultur jaringan yang diawali dengan pembentukan kalus menjadi alternatif dalam perbanyakan tanaman gaharu dengan penambahan 2,4-D untuk merangsang pertumbuhan kalus pada eksplan daun tanaman gaharu.

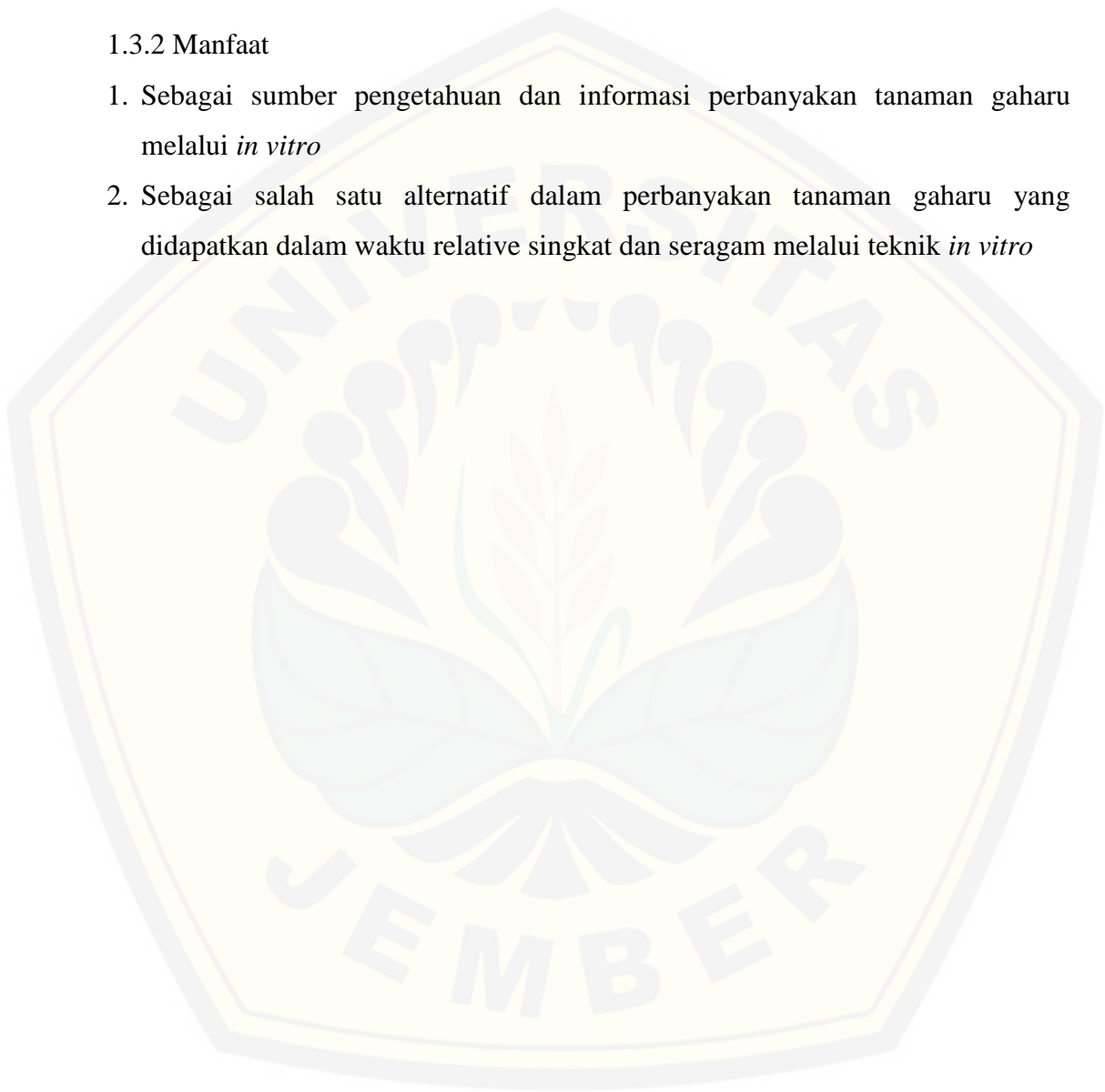
### 1.3 Tujuan dan Manfaat

#### 1.3.1 Tujuan

1. Mengetahui pengaruh konsentrasi 2,4-D terhadap pembentukan kalus pada eksplan gaharu

#### 1.3.2 Manfaat

1. Sebagai sumber pengetahuan dan informasi perbanyakan tanaman gaharu melalui *in vitro*
2. Sebagai salah satu alternatif dalam perbanyakan tanaman gaharu yang didapatkan dalam waktu relative singkat dan seragam melalui teknik *in vitro*



## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Botani Tanaman Gaharu (*Gyrinops verstegii*)

Produk Hasil Hutan Bukan Kayu (HHBK) di Indonesia cukup banyak, salah satu diantaranya yang berpotensi dan bernilai komersial tinggi adalah komoditi gaharu. Gaharu dalam perdagangan internasional dikenal dengan nama dagang *agarwood*, *aloewood*, atau *eaglewood*. Tanaman gaharu merupakan salah satu kelompok tumbuhan penghasil aromatik bernilai komersil tinggi dalam bentuk gubal gaharu dan kamedangan.

CITES (*Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora*) mencatat, terdapat tujuh spesies termasuk dalam genus *Gyrinops* spp., dan enam diantaranya tersebar di Indonesia bagian timur (Sitepu *et al.*, 2010). Spesies-spesies tersebut berpotensi untuk dikembangkan dan berasal dari hutan alam. Jenis yang banyak dikembangkan di Indonesia adalah *Gyrinops verstegii*. *Gyrinops* di Indonesia umumnya berada di Indonesia bagian timur, seperti tersebar di Sulawesi, Maluku, Nusa Tenggara, dan Papua. Taksonominya adalah:

|              |  |
|--------------|--|
| Divisio      | : Spermatophyta  |
| Sub division | : Angiospermae   |
| Class        | : Dicotyledoneae   |
| Sub-class    | : Dialypetalae   |
| Ordo         | : Myrtales   |
| Famili       | : Thymelaeaceae  |
| Genus        | : <i>Gyrinops</i>  |
| Spesies      | : <i>Gyrinops verstegii</i> (Susilo <i>et al.</i> , 2014). |

*Gyrinops* spp. sebagian besar tumbuh dan mendominasi struktur tegakan hutan di hutan hujan tropis, dataran rendah dari kering hingga rawa dengan ketinggian 0-1.000 m dpl. Tanaman penghasil gaharu tergolong jenis semi toleran yaitu membutuhkan naungan pada saat tingkat anakan/semai dan memerlukan cahaya yang cukup pada saat dewasa serta memiliki tingkat asosiasi dengan tanaman lain yang tinggi (Millang *et al.*, 2011).



Habitus berupa semak, pohon kecil hingga besar, dengan tinggi hingga 40 meter dan diameter batang sekitar 60 cm, banyak cabang. Batang pohon licin, warna coklat keputih-putihan atau kelabu, kadang beralur dan kayunya keras. Daunnya berbentuk lonjong memanjang, hijau tua, tepi daun merata, ujung meruncing, panjang sekitar 8 cm, lebar 5-6 cm; tulang daun sekunder tersusun paralel yang bersambungan dengan beberapa tulang daun pinggir (Sitepu *et al.*, 2011).

Perbungaan muncul di ketiak daun dekat ujung ranting, tangkai perbungaan pendek atau melekat pada tangkai bunga, dengan 2-3 bunga berbentuk seludang kecil yang cepat tanggal. Bunga bentuk tabung silindris dengan 5 cuping, bagian luar tabung berbulu, dan bagian dalam terdapat bulu seperti rambut memanjang ke atas. Kelopak bunga berbulu di kedua permukaan. Daun mahkota 5, terpisah atau bersatu dalam sebuah cawan/mangkok dan terletak di leher tabung yang berselang-seling dengan cuping kelopak, biasanya berbulu lebat. Benang sari 5, berdiri sendiri, terletak sejajar atau dibawah daun mahkota (Susilo *et al.*, 2014).

Bakal buah bentuk jorong atau bulat telur sungsang, berbulu roma, melekat atau bertangkai pendek, beruang 2; kepala putik kecil. Buah kapsul beruang, bulat telur sungsang sampai jorong, warna kuning-kemerahan, tangkai buah panjang dan muncul dari atas atau dari sisi tabung bunga. Biji bentuk bujur telur, bundar pipih, biasanya dengan sumbat lembaga pada bagian pangkal (Susilo *et al.*, 2014).

## **2.2 Karakteristik Tanaman Gaharu**

Karakteristik yang paling menonjol dari tanaman gaharu adalah aromanya yang harum. Aroma harum tersebut berasal dari gubal gaharu. Gubal yang dihasilkan oleh pohon gaharu adalah respon dari masuknya pathogen ke dalam jaringan baik disengaja maupun tidak dan menginfeksi pohon penghasil gaharu. Menurut Sumarna (2008), secara biologis penyakit masuk melalui luka patahan cabang yang selanjutnya akan mengkonsumsi energi hara dari sel-sel pada jaringan kayu yang pada akhirnya pohon akan mati dan dalam kayu akan terbentuk damar wangi (resin) yang bila terbakar (fumigasi) akan menghasilkan aroma keharuman yang khas.

Pohon yang terinfeksi merespon dengan menghasilkan suatu senyawa fitoaleksin yang berfungsi sebagai pertahanan terhadap penyakit atau pathogen. Senyawa fitoaleksin inilah yang merupakan resin gubal gaharu di dalam pohon karas. Sebagai respon terhadap serangan patogen tersebut, pohon akan menghasilkan metabolik sekunder atau senyawa resin yang menyebabkan bau wangi ketika dibakar (Sitepu *et al.*, 2011). Zat yang berbau wangi jika dibakar ini tidak keluar dari batang gubalnya, tetapi mengendap menjadi satu dalam batang. Hal ini terjadi pada tanaman yang sakit dan tidak pada pohon yang sehat. Senyawa fitoaleksin dapat berupa resin berwarna coklat dan beraroma harum, inilah yang dikenal sebagai gubal gaharu atau aromatik resin (Iskandar *and* Suhendra, 2012).

Gaharu mempunyai nilai sosial, budaya, dan ekonomi yang cukup tinggi sehingga tidak salah jika tanaman ini memiliki nilai jual yang tinggi pula. Secara tradisional gaharu dimanfaatkan antara lain dalam bentuk dupa untuk acara ritual dan keagamaan, pengharum tubuh dan ruangan, bahan kosmetik dan obat-obatan sederhana. Saat ini pemanfaatan gaharu telah berkembang demikian meluas antara lain untuk parfum, aroma terapi, sabun, *body lotion*, bahan obat-obatan yang memiliki khasiat sebagai anti asmaatik, anti mikrobia, dan stimulan kerja syaraf dan pencernaan (Siran *et al.*, 2010).

### **2.3 Teknik *In vitro* (Kultur Jaringan) Gaharu**

*Gyrinops* spp. merupakan jenis penghasil gaharu berkualitas baik. Jenis ini sudah sangat sulit ditemukan di hutan alam Sumatera dan Kalimantan tempat penyebaran alaminya, karena semakin meningkatnya eksploitasi hutan alam dan semakin gencarnya penebangan pohon gaharu saat ini (Millang *et al.*, 2011). Upaya budidaya yang dilakukan sejauh ini masih menemui banyak kendala. Perlu adanya perbanyakan dengan alternatif lain untuk mengatasi hal ini, salah satunya dengan teknik kultur jaringan.

Teknik perbanyakan dengan kultur jaringan merupakan suatu metode yang dilakukan dengan mengisolasi suatu bagian tanaman serta menumbuhkannya secara aseptik di dalam suatu media budidaya sehingga bagian-bagian tanaman tersebut dapat memperbanyak diri dan berenerasi menjadi tanaman lengkap



kembali (totipotensi). Kelebihan dari teknik tersebut yakni dapat menghasilkan tanaman dalam jumlah banyak, waktu yang relatif singkat serta mempunyai sifat morfologi dan fisiologi yang sama dengan induknya (Wardatutthoyyibah *et al.*, 2015). Melalui teknik ini diharapkan nantinya dapat dilakukan propagasi (perbanyak) sebagai salah satu kegiatan untuk pelestarian plasma nutfah tanaman gaharu.

Keberhasilan dari teknik kultur jaringan dipengaruhi beberapa faktor, seperti keadaan lingkungan yang aseptik, lingkungan inkubasi yang tepat, komposisi media dan zat pengatur tumbuh yang sesuai, serta pemilihan eksplan yang tepat. Faktor-faktor tersebut perlu diperhatikan, karena setiap jenis tanaman yang berbeda atau bahkan bagian organ/sel/jaringan dari tanaman yang sama dapat memberikan respon yang berbeda (Salisbury *and* Ross, 1995).

Perbanyak tanaman melalui kultur jaringan dapat dilakukan melalui jalur embriogenesis dan embriogenesis somatik. Cara yang paling banyak diterapkan untuk meregenerasikan planlet adalah embriogenesis somatik. Perbanyak melalui embriogenesis somatik untuk produksi tanaman kehutanan akan lebih banyak mendapatkan perhatian dibandingkan cara lainnya, hal ini dikarenakan pengaruh dari hasil tanaman. Keuntungan dari embriogenesis somatik adalah embrio yang dihasilkan bersifat bipolar. Bipolar yaitu memiliki dua calon meristem diantaranya meristem akar dan meristem tunas sehingga tahapan pengakaran tidak diperlukan. Embriogenesis somatik menghasilkan tanaman yang sama seperti melalui embrio zigotik sehingga tanaman dapat menghasilkan akar tunggang seperti perbanyak menggunakan biji. Perbanyak ini dapat dilakukan setiap saat tanpa mengenal musim dan masa istirahat embrio. Perbanyak melalui embriogenesis somatik dapat menghasilkan jumlah propagul banyak dan efisien dalam waktu relatif singkat dari pada hasil regenerasi melalui organogenesis. Embriogenesis somatik pada tanaman kehutanan mempunyai beberapa tahapan perkembangan yang spesifik seperti induksi kalus embriogenik, pemeliharaan, pendewasaan, perkecambahan dan aklimatisasi (Sukmadjaja, 2005).

Penelitian ini menggunakan daun tanaman gaharu sebagai eksplan. Sharma and Vashistha (2015), menyatakan bahwa eksplan dari jaringan daun yang masih aktif membelah yang memiliki jaringan meristem dapat memberikan hasil yang baik. Menurut Pierik (1997) dalam Zulkarnain (2009), menyarankan untuk menggunakan jaringan-jaringan yang muda dan lunak karena umumnya jaringan tersebut lebih mudah berproliferasi salah satunya berupa kalus. Kalus merupakan proliferasi massa sel yang belum terdiferensiasi. Kalus yang awalnya sedikit semakin bertambah banyak baik volume ataupun jumlah kemudian merespon organogenesis. Semakin bertambahnya volume dan jumlah kalus menunjukkan adanya proliferasi pada sel.

Publikasi tentang tanaman gaharu telah banyak dilakukan, baik tentang pengaruh penggunaan eksplan, maupun pengaruh media. Penelitian kultur jaringan terhadap *Gyrinops versteegii* masih belum banyak dilakukan, sehingga acuan terdekat yaitu pada family terdekat. Jenis *Aquilaria malaccensis* dan *Gyrinops versteegii* memiliki hubungan kekerabatan yang dekat (Ding, 1960) sehingga digunakan sebagai literatur dalam penelitian.

## **2.4 Media Murashige dan Skoog (MS)**

Kegiatan kultur jaringan ditentukan oleh ketepatan menentukan komposisi media yang akan digunakan sebagai media tanam. Komposisi media terutama kebutuhan zat pengatur tumbuh akan mempengaruhi pertumbuhan eksplan (Wardatutthoyyibah *et al.*, 2015). Eksplan diletakkan dan dipelihara dalam media padat dalam keadaan steril. Penggunaan media harus sesuai atau cocok pada eksplan yang digunakan agar eksplan dapat berkembang dengan baik dalam pembentukan kalus, tunas dan akar (Karlianda *et al.*, 2013).

Media yang digunakan pada penelitian ini adalah media MS (Murashige dan Skoog). MS mengandung hara makro, mikro, dan vitamin yang sering digunakan untuk memenuhi kebutuhan tanaman. Media MS merupakan media dasar yang paling luas penggunaannya dibanding media dasar lainnya, terutama pada mikropropagasi tanaman dikotil dengan hasil yang memuaskan (Zulkarnain, 2009).

Media Murashige dan Skoog merupakan perbaikan komposisi media Skoog, terutama kebutuhan garam anorganik yang mendukung pertumbuhan optimum tanaman. Meskipun tanaman gaharu merupakan tanaman pohon, untuk induksi kalus sendiri digunakan media MS, bukan WPM. Hal ini telah dibuktikan pada penelitian Saikia *et al.* (2013), bahwa penggunaan media untuk induksi kalus lebih cepat terjadi pada media MS (12 hst) dibandingkan WPM (28 hst) untuk semua ulangan. Publikasi dari penelitian tanaman gaharu lainnya juga menggunakan media MS sebagai media dasar. Kecocokan dari media MS dibandingkan WPM bisa dikarenakan MS memiliki kandungan garam-garam yang lebih tinggi daripada media lain, disamping kandungan nitrat MS (39,4 mM) lebih tinggi dibandingkan WPM (9,7 mM) (Bell *et al.*, 2009). Kandungan nitrat yang tinggi berfungsi dalam mendorong diferensiasi sel (Adkins *et al.*, 2002 dalam Yelnititis, 2014) yang nantinya juga akan dibantu oleh zat pengatur tumbuh.

## **2.5 Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D**

Zat pengatur tumbuh (ZPT) dapat diartikan sebagai senyawa yang mempengaruhi proses fisiologi tanaman, pengaruhnya dapat mendorong dan menghambat proses fisiologi tanaman (Purwanti *et al.*, 2013). Kegiatan pembudidayaan tanaman biasanya digunakan hormon buatan (zat pengatur tumbuh) untuk mendukung pertumbuhan tanaman tersebut. Kombinasi media dasar dan zat pengatur tumbuh yang tepat akan meningkatkan aktivitas pembelahan sel dalam proses morfogenesis dan organogenesis (Lestari, 2011). Zat pengatur tumbuh yang ditambahkan dalam media kultur adalah asam 2,4-diklorofenoksi asetat acid (2,4-D) dimana 2,4-D termasuk golongan auksin. Zat pengatur tumbuh ini banyak digunakan karena sifatnya yang stabil, tidak mudah mengalami kerusakan oleh cahaya maupun pemanasan pada waktu sterilisasi.

Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D secara eksogen akan mempengaruhi kadar auksin endogen. Pemberian ZPT pada konsentrasi tertentu akan menstimulasi pertumbuhan, karena merubah level hormon endogen, sehingga perubahan fisiologis eksplan akan terjadi (Lestari *et al.*, 2013). Hal ini dapat terjadi karena 2,4-D berfungsi dalam meningkatkan tekanan osmotik, permeabilitas sel, mengurangi tekanan pada dinding sel, meningkatkan plastisitas dan

mengembangkan dinding sel, serta meningkatkan sintesis protein. Selain itu auksin juga berperan dalam pembesaran sel (Widiastoety, 2014)

Menurut Hagio (2002) dalam Yelnititis and Komar (2010), zat pengatur tumbuh dari kelompok auksin seperti 2,4-D penting untuk induksi kalus. 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 *et al.*, 2003). Mekanisme auksin dalam menginduksi kalus adalah dengan mengaktifkan pompa proton pada dinding sel dan menginduksi sekresi asam keluar sel. Sekresi asam ini mengaktifkan enzim tertentu seperti selulase, yang berperan dalam pemutusan beberapa ikatan hidrogen pada rantai molekul selulosa yang menyusun dinding sel, sehingga dinding sel menjadi melentur dan meregang menyebabkan air masuk ke dalam sel secara osmosis dan sel mengalami pembentangan (Salisbury and Ross, 1995).

Penggunaan hormon 2,4-D untuk tanaman gaharu telah dipublikasikan oleh Saikia *et al.* (2012), bahwa induksi kalus eksplan daun gaharu menggunakan media dengan penambahan 2,4-D 2 ppm dapat menghasilkan kalus dengan berat basah cukup tinggi (7,368 gram) pada hari ke 45-60 hari. Publikasi lain oleh Tonga *et al.* (2012), menunjukkan penambahan 2,4-D 2 ppm pada eksplan biji gaharu merupakan hasil terbaik dalam menginduksi kalus dan Debnath (2013), mempublikasikan pertumbuhan kalus gaharu dengan penambahan 2,4-D 2 ppm sebagai media terbaik untuk induksi kalus.

## 2.6 Hipotesis

1. Penambahan 2,4-D dapat meningkatkan induksi kalus pada tanaman gaharu

## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret-Desember 2016 di Laboratorium Kultur Jaringan, Jurusan Agronomi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember

### 3.2 Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan merupakan alat dan bahan yang umum digunakan di laboratorium kultur jaringan. Alat-alat yang digunakan diantaranya timbangan analitik, magnetic stirrer, pH meter, autoclave, Laminair Air Flow (LAF), gelas ukur, botol kultur, cawan petri, pinset, gunting, scalpel, erlenmeyer. Bahan-bahan yang digunakan adalah eksplan berupa daun tanaman gaharu (*Gyrinops* spp.), media MS (Murashige Skoog) basal, zat pengatur tumbuh 2,4-D, aquades, natrium hipoklorit, sukrosa, alcohol 70%.

### 3.3 Metode Penelitian

Metode yang digunakan pada percobaan ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan konsentrasi 2,4-D, dimana setiap perlakuan dilakukan lima kali ulangan. Perlakuan pada penelitian ini diantaranya :

1. 0 ppm (kontrol) (A1)
2. 1 ppm (A2)
3. 2 ppm (A3)
4. 3 ppm (A4)
5. 4 ppm (A5)

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan analisis ragam (ANOVA), apabila terdapat perbedaan yang nyata diantara perlakuan maka akan dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan 5%.

### 3.4 Pelaksanaan Penelitian

#### 3.4.1 Pembuatan Media

Menyiapkan bahan yang digunakan untuk pembuatan media. Mencampurkan MS basal dengan sukrosa dan dilarutkan dalam 1 liter air. Setelah



itu larutan diukur derajat keasamannya menggunakan pH meter hingga larutan menunjukkan angka 5,7-5,8 dengan bantuan NaOH 1 N jika terlalu asam atau HCl 1 N jika larutan terlalu basa. Kemudian larutan dicampur dengan agar sebanyak 8 g/l dan dipanaskan hingga mendidih. Selanjutnya media dimasukkan ke dalam botol-botol kultur, menutupnya, dan diautoclave pada suhu 121<sup>0</sup>C dan tekanan 17,5 psi selama 30 menit.

### **3.4.2 Sterilisasi peralatan**

Sterilisasi peralatan dapat dilakukan dengan menggunakan autoklaf, dimana sebelum alat-alat seperti botol kultur, cawan petri, pinset, scalpel dimasukkan ke dalam autoklaf, peralatan yang akan digunakan harus terlebih dahulu dicuci dan dibungkus menggunakan plastik khusus yang tahan terhadap suhu tinggi. Sehingga peralatan yang akan digunakan tidak mudah rusak. Setelah peralatan tersebut dibungkus, selanjutnya disterilkan di dalam autoclave pada suhu 121<sup>0</sup>C dan tekanan 17,5 psi selama 30 menit.

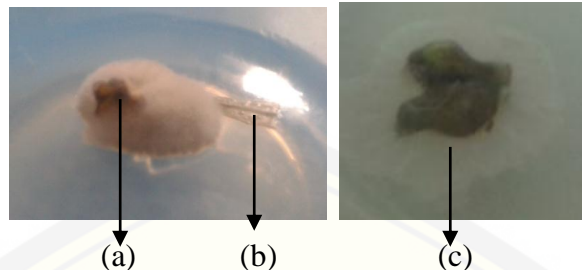
### **3.4.3 Sterilisasi Eksplan**

Sterilisasi eksplan merupakan tahap awal dari kegiatan kultur jaringan untuk mendapatkan eksplan yang steril dan tidak mengandung kontaminan baik jamur maupun bakteri. Sterilisasi yang telah dilakukan terdapat beberapa cara diantaranya :

#### *Metode Sterilisasi 1*

Sterilisasi satu dilakukan dengan mencuci eksplan pada air mengalir kemudian di bawa ke LAF. Eksplan digojog menggunakan 1,05% natrium hipoklorit (50 ml) ditambah 3 tetes tween selama 5 menit, bilas aquades selama 3 menit sebanyak 2 kali dan mengulang penggojogan tersebut satu kali. Menggojog kembali dengan 1,05% natrium hipoklorit (50 ml) selama 5 menit, bilas dan mengulang kembali penggojogan. Eksplan kemudian direndam dalam petridish berisi air steril yang ditambahkan iodine. Perendaman dilakukan bersamaan dengan pemotongan eksplan menggunakan gunting. Setelah didapatkan eksplan yang berukuran kecil, eksplan dapat ditanam. Hasil yang didapatkan dari sterilisasi satu adalah kurang dari 25% eksplan hidup. Eksplan belum tersterilisasi dengan baik

karena 5-6 hari setelah sterilisasi eksplan terkontaminasi jamur, bakteri dan terjadi kematian jaringan (Gambar 3.1).

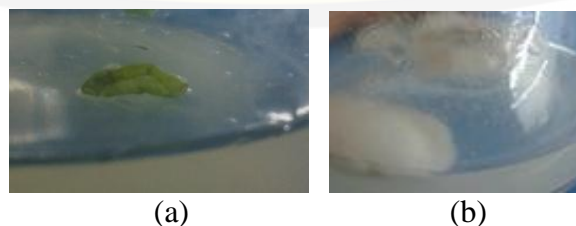


Gambar 3.1. Hasil sterilisasi eksplan setelah 5-6 hari (a) Eksplan terkontaminasi jamur, (b) Eksplan mengalami kematian (c) Eksplan terkontaminasi bakteri

Gambar 3.1 menunjukkan, eksplan yang terkontaminasi jamur ditandai dengan adanya hifa putih di sekitarnya (a) dan eksplan yang terkontaminasi bakteri terdapat lendir putih pekat (c). Eksplan mengalami kematian ditunjukkan dengan warna yang semula hijau menjadi berwarna putih transparan setelah sterilisasi dilakukan (b).

#### Metode Sterilisasi 2

Sterilisasi 2 terdapat modifikasi dengan mengurangi penggojogan. Sterilisasi di luar LAF sama seperti sterilisasi 1 kemudian eksplan digojog 1,05% natrium hipoklorit ditambahkan 3 tetes tween, membilas dengan aquades sebanyak 2 kali selama 3 menit, dan sterilisasi ini dilakukan 3 kali. Eksplan kemudian direndam dalam petridish berisi air steril yang ditambahkan iodine dan dilakukan pemotongan. Hasil dari sterilisasi 2 adalah kurang dari 50% eksplan yang ditanam tidak terkontaminasi, selain itu eksplan menunjukkan respon bergelombang atau menggebang (*swelling*) pada sayatan/potongan setelah 3 hari penanaman. Hasil lainnya menunjukkan adanya kontaminasi berupa jamur pada eksplan.



Gambar 3.2 Hasil sterilisasi 2 setelah 3 hari (a) Eksplan menggebang (*swelling*) (b) Eksplan terkontaminasi jamur.

Gambar 3.2 menunjukkan respon eksplan setelah sterilisasi 2. Eksplan menunjukkan respon dengan mengembang (*swelling*) (a), dimana respon tersebut merupakan tahap awal sebelum pembentukan kalus. Eksplan lainnya masih belum aman karena eksplan terkontaminasi jamur (b). Sterilisasi 2 dirasa masih belum memenuhi syarat mutlak dalam teknik sterilisasi karena masih terdapat kontaminasi pada eksplan.

### Metode Sterilisasi 3

Sterilisasi ketiga dilakukan dengan mencuci eksplan menggunakan deterjen, membilas dengan air mengalir hingga terasa licin kemudian dibawa ke LAF. Eksplan disterilisasi dengan menggunakan air steril yang ditetesi tween 5 tetes, gojog selama 5 menit kemudian bilas menggunakan aquades sebanyak 2 kali selama 3 menit. Sterilisasi selanjutnya menggunakan 1,05% natrium hipoklorit, gojog selama 5 menit bilas dengan aquades selama 3 menit sebanyak 2 kali, mengulang sterilisasi ini sekali lagi. Eksplan kemudian direndam dalam petridish berisi air steril yang ditambahkan iodine dan dilakukan pemotongan. Eksplan selanjutnya dikeringkan dengan meletakkan ekplan di atas kertas saring steril yang berada di dalam petridis. Sterilisasi 3 menghasilkan eksplan tanpa kontaminasi sebanyak hampir 85%.



Gambar 3.3 Hasil sterilisasi 3 (a) Eksplan yang telah steril, (b) eksplan yang telah berkembang menjadi kalus.

Gambar 3.3 terlihat eksplan yang ditanam setelah inkubasi 3 hari tidak menunjukkan adanya kontaminasi baik secara sistemik maupun pada media (a). Metode sterilisasi ini merupakan metode yang tepat untuk sterilisasi daun tanaman gaharu untuk induksi kalus. Eksplan yang telah steril kemudian berkembang menjadi kalus (b). Eksplan yang dihasilkan masih terdapat beberapa yang kontam,



tetapi dapat diatasi dengan melakukan penyelamatan karena kontaminasi berada di permukaan eksplan.

### 3.4.4 Induksi kalus

Eksplan yang telah disterilisasi kemudian di tanam di media MS yang telah ditambahkan hormon 2,4-D sesuai perlakuan diantaranya 0 ppm; 1 ppm; 2 ppm; 3 ppm dan 4 ppm. Pada setiap botol kultur ditanam 2 eksplan potongan daun. Eksplan ditumbuhkan hingga terbentuk kalus dan dilakukan subkultur setiap 28 hari sekali.

### 3.5 Variabel Pengamatan

Data yang diperoleh dianalisis secara kualitatif dan kuantitatif. Variabel secara kuantitatif pada induksi kalus adalah sebagai berikut :

1. Kedinian kemunculan kalus, ditentukan berdasarkan penghitungan jumlah hari yang dibutuhkan eksplan untuk membentuk kalus, ditunjukkan dengan munculnya granul atau jaringan berwarna putih kekuningan pada permukaan eksplan. Pengamatan kedinian munculnya kalus dilakukan setiap hari dengan menghitung hari saat munculnya kalus yang dinyatakan dalam HST (hari setelah tanam).
2. Berat basah kalus diukur pada saat subkultur dilakukan yaitu pada 28 hst dan 56 hst, dilakukan dengan menimbang botol yang berisi kalus kemudian eksplan disubkultur dan botol bekas eksplan sebelumnya tersebut dihitung beratnya kembali. Hasil pengurangan dari botol awal dan akhir tersebut merupakan berat basah kalus. Hal ini diasumsikan karena hanya kalus saja yang dipindah sehingga penurunan nilai yang terjadi merupakan berat kalus.

Variabel secara kualitatif pada induksi kalus diantaranya warna kalus dan tekstur kalus. Pengamatan warna kalus didasarkan pada buku pedoman warna kalus yaitu *Munsell Color Charts For Plant Tissue*. Pengukuran didasarkan pada kecocokan warna kalus dengan warna yang terdapat pada buku *Munsell* dan hasil yang disajikan merupakan hasil yang dominan dari setiap perlakuan. Sedangkan untuk pengamatan tekstur kalus diamati secara visual.

## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Perlakuan 2,4-D 2 ppm menginduksi kalus gaharu cenderung lebih cepat yaitu 14 HST, berat basah kalus cenderung lebih tinggi yaitu 0,47 gram pada hari ke 28 dan 1,48 gram pada hari ke 56 serta kalus yang didapat friable (remah) dengan warna kuning (5Y 8/8).

### 5.2 Saran

1. Eksplan tanaman gaharu yang berasal dari lapang memiliki tingkat kontaminasi lebih tinggi sehingga diperlukan kesabaran dan ketelitian dalam melaksanakan sterilisasi untuk meminimalisir kontaminasi.
2. Subkultur yang dilakukan pada eksplan harus benar-benar kering sehingga pada media selanjutnya tidak terjadi kontaminasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Bell, R. L., C. Srinivasan, D. Lomberk. 2009. Effect of Nutrient Media on Axillary Shoot Proliferation and Preconditioning for Adventitious Shoot Regeneration of Pears. *In Vitro Cell.Dev.Biol.-Plant*, 1-7
- Debnath, B. 2013. In Vitro Response, Growth and Maintenance of Callus of *Aquilaria agallocha* Roxb. (Thymelaeaceae). *Bioscience Discovery*, 4(2): 155-159
- Ding, Hou. 1960. Wolters-Noordhoff Publishing, Groningen, The Netherlands. "Thymelaeaceae". In *Van Steenis C. G. G. J. (eds.) Flora Malesiana*, 1(6): 1-48.
- Fadilah, R., E. Ratnasari, dan Isnawati. 2014. Induksi dan Pertumbuhan Kalus Daun Tin (*Ficus carica*) dengan Penambahan Berbagai Kombinasi Konsentrasi IBA dan Kinetin pada Media MS secara In Vitro. *Lentera Bio*, 3 (3): 141-146
- Goerge, E. F., M.A. Hall, and G.J.D. Klerk. 2008. *Plant Propagation by Tissue Culture 3rd Edition Volume 1. The Background*. Netherland : Springer
- Hendaryono, D.P.S. dan A. Wijayani. 1994. *Kultur Jaringan (Pengenalan dan Petunjuk Perbanyakkan Tanaman Secara Vegetatif Media)*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Iskandar, D. dan A. Suhendra. 2012. Uji Inokulasi *Fusarium* sp untuk Produksi Gaharu Pada Budidaya *A. beccariana*. *Sains dan Teknologi Indonesia*, 14 (3): 182-188
- Karlianda, N., R.S. Wulandari dan Y. Mariani. 2013. Pengaruh NAA dan BAP terhadap Perkembangan Subkultur Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk).
- Lestari, E. 2011. Peranan Zat Pengatur Tumbuh dalam Perbanyakkan Tanaman melalui Kultur Jaringan. *AgroBiogen*, 7 (1) : 63-64
- Lestari, E., T. Nurhidayati dan S. Nurfadilah. 2013. Pengaruh Konsentrasi ZPT 2,4-D dan BAP terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Biji *Dendrobium laxiflorum* J.J Smith secara In Vitro. *Sains dan Seni Pomits*, 2(1): 43-47
- Millang, S., B. Bachtiar dan A. Makmur. 2011. Awal Pertumbuhan Pohon Gaharu (*Gyrinops* sp.) Asal Nusa Tenggara Barat di Hutan Pendidikan Universitas Hasanuddin. *Hutan dan Masyarakat*, 6 (2): 117-124

- Ningsih, M.K., M.P. Biantary dan Jumani. 2015. Uji Mutu Fisik dan Fisiologis Benih Pohon Penghasil Gaharu (*Aquilaria Microcarpa* Baill.) Berdasarkan Fenotipe Pohon Induk Di KHDTK Samboja Kabupaten Kutai Kartanegara. *AGRIFOR*, 14 (2): 221-238
- Nisak, K., T. Nurhidayati dan K.I. Purwani. 2012. Pengaruh Kombinasi Konsentrasi ZPT NAA dan BAP pada Kultur Jaringan Tembakau *Nicotiana tabacum* var. Prancak 95. *Sains dan Seni Pomits*, 1 (1) :1-6
- Peni, D.K., Solichatun dan E. Anggarwulan. 2004. Pertumbuhan, Kadar Klorofil-Karotenoid, Saponin, Aktivitas Nitrat reduktase Anting-anting (*Acalypha indica* L.) pada Konsentrasi Asam Giberelat (GA3) yang Berbeda. *Biofarmasi*, 2 (1): 1-8
- Purwanti, G., T. F. Manurung dan H. Darwati. 2013. Pengaruh Auksin Terhadap Pertumbuhan Bibit Cabutan Alam Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk).
- Rahayu, B., Solichatun dan E. Anggarwulan. 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
- Rusdianto dan A. Indrianto. 2012. Induksi Kalus Embriogenik Pada Wortel (*Daucus carota*) Menggunakan 2,4 D. *Bionature*, 13(2): 136-145.
- Saikia, M., K. Shrivastava and S.S. Singh. 2012. An Efficient Protocol for Callus Induction in *Aquilaria malaccensis* Lam. Using Leaf Explants at Varied Concentrations of Sucrose. *International Journal of Plant Research*, 2(6): 188-194
- Saikia, M., K. Shrivastava and S.S. Singh. 2013. Effect of Culture Media and Growth Hormones on Callus Induction in *Aquilaria malaccensis* Lam., a Medicinally and Commercially Important Tree Species of North East India. *Biological Science*, 6(2): 96-105
- Salisbury, F.B., dan C.W. Ross. 1995. *Fisiologi tumbuhan. Jilid 1*. Terjemahan Diah R. Lukman dan Sumaryo. Bandung : ITB
- Semiadi, G., H. Wiriadinata, E.B. Waluyo dan D. Darnaedi. 2010. Rantai Pasokan Produk Tumbuhan Gaharu (*Aquilaria* spp.) asal Merauke, Papua. *Buletin Plasma Nutfah*, 16(2): 150-160
- Sharma, H., and B.D. Vashistha. 2015. Plant Tissue Culture: A Biological Tool for Solving The Problem of Propagation of Medicinally Important Woody Plants- A Review. *Advanced Research*, 3(2): 402-411

- Siran, S.A. dan M. Turjaman. 2010. *Pengembangan Teknologi Produksi Gaharu Berbasis Pemberdayaan Masyarakat*. Bogor: Pusat Penelitian dan Pengembangan Hutan dan Konservasi Alam
- Sitepu, I.R., Aryanto, Y. Hashidoko dan M. Turjaman. 2010. Aplikasi Rhizobakteri Penghasil Fitohormon untuk Meningkatkan Pertumbuhan Bibit *Aquilaria* sp. Di Persemaian. *Info Hutan*, 7(2): 107-116
- Sitepu, I.R., E. Santoso and M. Turjaman. 2011. *Identification of Eaglewood (Gaharu) Tree Species Susceptibility*. Bogor: Indonesia's Work Programme
- Sriyanti, D. P. 2000. Pelestarian Tanaman Nilam (*Pogostemon heyneanus* Benth.) melalui Kultur Mikrostek. *BioSMART*, 2(2): 21-25
- Sugiyama, M. 1999. Organogenesis In Vitro. *Current Opinion in Plant Biology*, 2: 61-64.
- Sukmadjaja, D. 2005. Embriogenesis Somatik Langsung pada Tanaman Cendana. *Bioteknologi Pertanian*, 10 (1):1-6
- Sumarna, Y. 2008. Beberapa Aspek Ekologi, Populasi Pohon, dan Permudaan Alam Tumbuhan Penghasil Gaharu Kelompok Karas (*Aquilaria* spp.) di Wilayah Provinsi Jambi. *Penelitian Hutan dan Konservasi Alam*, 5(1): 93-99
- Susilo, A., T. Kalima dan E. Santoso. 2014. *Panduan Lapangan Pengenalan Jenis Pohon Penghasil Gaharu Gyrinops spp. di Indonesia*. Bogor: Pusat Penelitian dan Pengembangan Konservasi dan Rehabilitasi
- Tonga, I. B., E. B. M. Siregar, dan N. Anna. 2012. Respon Eksplan Biji Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk.) Terhadap Pemberian 2,4-D Secara In Vitro. *USU*, 1 (1): 16-21
- Wardatutthoyyibah, R.S. Wulandari dan H. Darwati. 2015. Penambahan Auksin dan Sitokinin terhadap Pertumbuhan Tunas dan Akar Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk) Secara *In Vitro*. *Hutan Lestari*, 3(1): 43-50
- Widiastoety, D. 2014. Pengaruh Auksin dan Sitokinin Terhadap Pertumbuhan Planlet Angrek Mokara. *J. Hort.*, 24(3): 230-238
- Yelnititis. 2014. Perbanyak Tunas *Gyrinops versteegii* (Gilg.) Domke. *Pemuliaan Tanaman Hutan*, 8 (2): 108-120

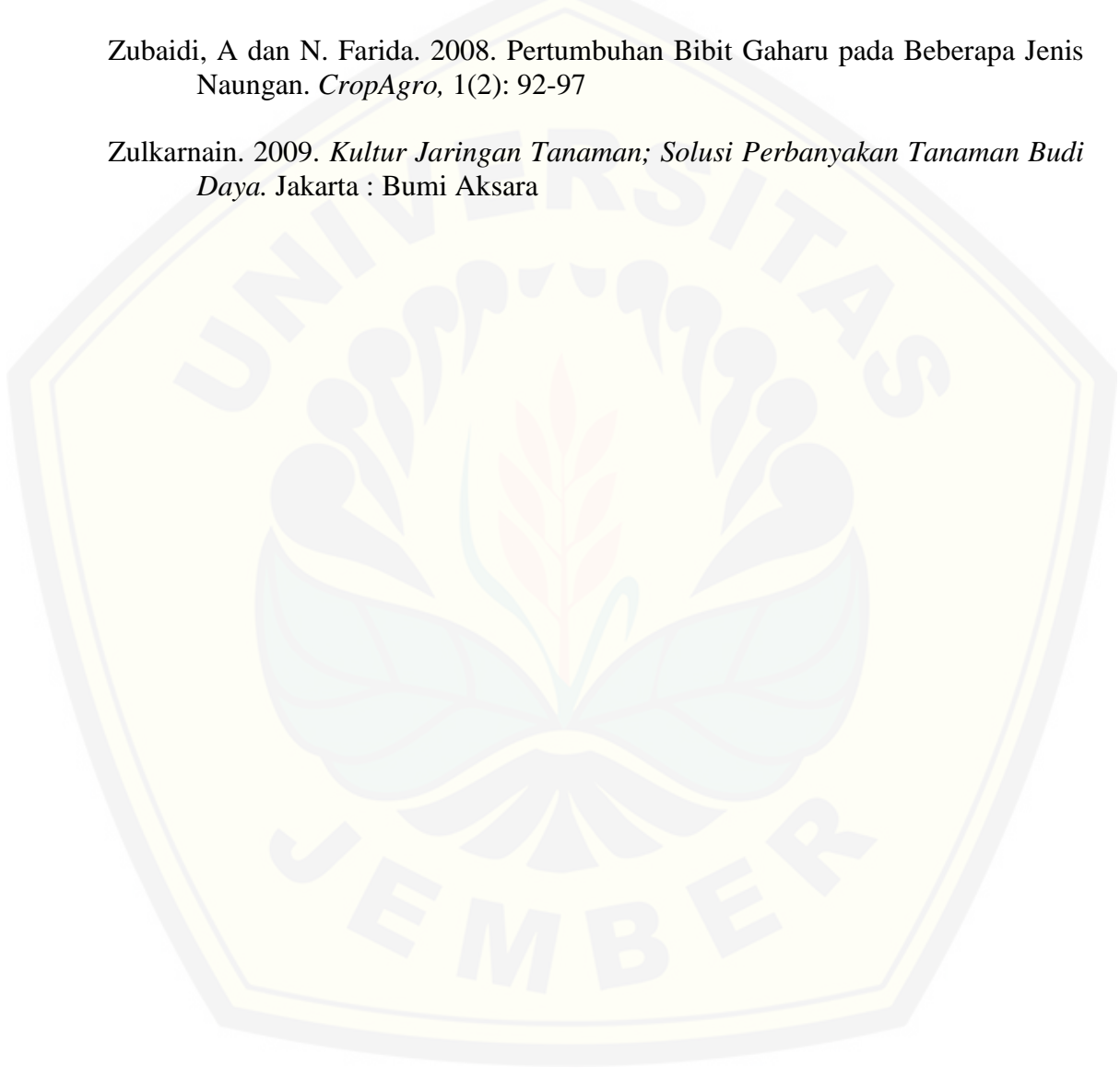


Yelnititis, dan T. E. Komar. 2010. Upaya Induksi Kalus Embriogenik dari Potongan Daun Ramin. Bogor : Indonesia's Work Programme for 2008 ITTO CITES Project

Yulia, E.N.S., L.S. Budipramana dan E. Ratnasari. 2012. Induksi dan Pertumbuhan Kalus Batang Melati (*Jasminum sambac*) pada Media MS dengan Penambahan Giberelin. *LenteraBio*, 1 (1): 49–53

Zubaidi, A dan N. Farida. 2008. Pertumbuhan Bibit Gaharu pada Beberapa Jenis Naungan. *CropAgro*, 1(2): 92-97

Zulkarnain. 2009. *Kultur Jaringan Tanaman; Solusi Perbanyak Tanaman Budi Daya*. Jakarta : Bumi Aksara



LAMPIRAN

A. Analisis Ragam Variabel Kedinian munculnya kalus (HST)

| No        | Perlakuan | Ulangan |      |      |      |      | Total | Rata-rata |
|-----------|-----------|---------|------|------|------|------|-------|-----------|
|           |           | 1       | 2    | 3    | 4    | 5    |       |           |
| 1         | A1        | 8       | 17   | 17   | 18   | 16   | 76    | 15.2      |
| 2         | A2        | 7       | 18   | 16   | 18   | 14   | 73    | 14.6      |
| 3         | A3        | 14      | 14   | 14   | 14   | 14   | 70    | 14        |
| 4         | A4        | 13      | 14   | 14   | 15   | 15   | 71    | 14.2      |
| 5         | A5        | 16      | 16   | 17   | 17   | 17   | 83    | 16.6      |
| Total     |           | 58      | 79   | 78   | 82   | 76   | 373   |           |
| Rata-rata |           | 11.6    | 15.8 | 15.6 | 16.4 | 15.2 |       | 14.92     |

FK = 5565,16

ANOVA

| Sumber Keragaman | db | JK     | KT   | F-hitung | F-tabel 5% | F-tabel 1% |
|------------------|----|--------|------|----------|------------|------------|
| Perlakuan        | 4  | 21.84  | 5.46 | 0.71     | 2.87       | 4.43       |
| Error            | 20 | 154    | 7.7  |          |            |            |
| Total            | 24 | 175.84 |      |          |            |            |

cv = 18,60

**B. Analisis Ragam Variabel Berat Basah Kalus H-28**

| No | Perlakuan | Ulangan |      |       |       |      | Total | Rata-rata |
|----|-----------|---------|------|-------|-------|------|-------|-----------|
|    |           | 1       | 2    | 3     | 4     | 5    |       |           |
| 1  | A1        | 0.75    | 0.64 | 0.35  | 0.35  | 0.13 | 2.22  | 0.44      |
| 2  | A2        | 0.25    | 0.12 | 0.09  | 0.99  | 0.31 | 1.76  | 0.35      |
| 3  | A3        | 0.12    | 0.64 | 0.63  | 0.7   | 0.24 | 2.33  | 0.47      |
| 4  | A4        | 0.22    | 0.56 | 0.47  | 0.15  | 0.23 | 1.63  | 0.33      |
| 5  | A5        | 0.43    | 0.64 | 0.35  | 0.17  | 0.24 | 1.83  | 0.37      |
|    | Total     | 1.77    | 2.6  | 1.89  | 2.36  | 1.15 | 9.77  |           |
|    | Rata-rata | 0.354   | 0.52 | 0.378 | 0.472 | 0.23 |       | 0.3908    |

FK = 3,81

**ANOVA**

| Sumber Keragaman | db | JK       | KT       | F-hitung | F-tabel 5% | F-tabel 1% |
|------------------|----|----------|----------|----------|------------|------------|
| Perlakuan        | 4  | 0.074024 | 0.018506 | 0.277584 | 2.866081   | 4.43069    |
| Error            | 20 | 1.33336  | 0.066668 |          |            |            |
| Total            | 24 | 1.407384 |          |          |            |            |

cv= 66,07



**C. Analisis Ragam Variabel Berat Basah Kalus H-56**

| No               | Perlakuan | Ulangan |      |       |      |       | Total | Rata-rata |
|------------------|-----------|---------|------|-------|------|-------|-------|-----------|
|                  |           | 1       | 2    | 3     | 4    | 5     |       |           |
| 1                | A1        | 1.89    | 2.17 | 1.21  | 1.45 | 0.27  | 6.99  | 1.40      |
| 2                | A2        | 0.27    | 0.19 | 0.14  | 1.1  | 0.57  | 2.27  | 0.45      |
| 3                | A3        | 0.7     | 1.8  | 2.11  | 1.2  | 1.6   | 7.41  | 1.48      |
| 4                | A4        | 0.22    | 0.67 | 0.52  | 0.33 | 0.29  | 2.03  | 0.41      |
| 5                | A5        | 0.46    | 0.62 | 0.4   | 0.22 | 0.29  | 1.99  | 0.40      |
| <b>Total</b>     |           | 3.54    | 5.45 | 4.38  | 4.3  | 3.02  | 20.69 |           |
| <b>Rata-rata</b> |           | 0.708   | 1.09 | 0.876 | 0.86 | 0.604 |       | 0.8276    |

FK= 17,12

ANOVA

| Sumber Keragaman | db | JK    | KT   | F-hitung | F-tabel 5% | F-tabel 1% |
|------------------|----|-------|------|----------|------------|------------|
| Perlakuan        | 4  | 6.28  | 1.57 | 7.45     | 2.87       | 4.43 **    |
| Error            | 20 | 4.21  | 0.21 |          |            |            |
| Total            | 24 | 10.49 |      |          |            |            |

CV= 55,47

| jarak p | SSR (5%) | SSR (1%) | sd        | nilai ujd |
|---------|----------|----------|-----------|-----------|
| 2       | 2.95     | 4.02     | 0.2053017 | 0.61      |
| 3       | 3.1      | 4.22     |           | 0.64      |
| 4       | 3.18     | 4.33     |           | 0.65      |
| 5       | 3.25     | 4.4      |           | 0.67      |

tabel rata-rata

| perlakuan | rata-rata | A3   | A1   | A2   | A4   | A5   | notasi |
|-----------|-----------|------|------|------|------|------|--------|
|           |           | 1.48 | 1.40 | 0.45 | 0.41 | 0.40 |        |
| A3        | 1.48      | 0.00 |      |      |      |      | a      |
| A1        | 1.40      | 0.08 | 0.00 |      |      |      | a      |
| A2        | 0.45      | 1.03 | 0.95 | 0.00 |      |      | b      |
| A4        | 0.41      | 1.07 | 0.99 | 0.04 | 0.00 |      | b      |
| A5        | 0.40      | 1.08 | 1.00 | 0.05 | 0.01 | 0.00 | b      |
|           |           |      | 0.67 | 0.65 | 0.64 | 0.61 |        |

**Tabel Komposisi MS (Murashige dan Skoog)**

| Stok | Senyawa  | Per liter stok | Pemakaian |                  |
|------|--|----------------|-----------|------------------|
|      |  |                | Stok      | Per liter medium |
| A    | NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>                    | 82,5 g         | 20 ml     | 1.650 mg         |
| B    | KNO <sub>3</sub>                                   | 95 g           | 20 ml     | 1.900 mg         |
| C    | KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>                    | 34 g           | 5 ml      | 170 mg           |
|      | H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>                     | 1,24 g         |           | 6,2 mg           |
|      | KI   | 0,166 g        |           | 0,83 mg          |
|      | Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O | 0,05 g         |           | 0,25 mg          |
|      | CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O               | 0,005 g        |           | 0,025 mg         |
|      | CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O               | 88 g           |           | 5 ml             |
| D    | MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O               | 74 g           | 5 ml      | 370 mg           |
|      | MnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O               | 4,46 g         |           | 22,3 mg          |
| E    | ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O               | 1,72 g         | 5 ml      | 8,6 mg           |
|      | CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O               | 0,005 g        |           | 0,025 mg         |
|      | Na <sub>2</sub> .EDTA                              | 7,46 g         |           | 37,3 mg          |
|      | FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O               | 5,56 g         |           | 27,8 mg          |
| F    | <i>Myo</i> -inositol                               | 10 g           | 10 ml     | 100 mg           |
|      | Glisin   | 0,2 g          |           | 2 mg             |
|      | Niasin   | 0,05 g         |           | 0,5 mg           |
|      | Piridoksin-HCl                                     | 0,05 g         |           | 0,5 mg           |
|      | Tiamin-HCl   | 0,01 g         |           | 0,1 mg           |
|      | Sukrosa  |                |           | 30 g             |
|      | Agar   |                |           | 8 g              |

Sumber : Zulkarnain (2011)